

Biológiai nanorendszerek dinamikája

MTA doktori értekezés

Derényi Imre



Eötvös Loránd Tudományegyetem
Fizikai Intézet
Biológiai Fizika Tanszék

Budapest, 2005.

Tartalomjegyzék

Bevezetés	5
1. Molekuláris motorfehérjék, Brown racsok és alkalmazásai	9
Előzmények	9
1.1. Megfordítható mozgásirányú motorok [T1, T2]	14
1.2. Relaxáció potenciálvölgyben [T3, T4]	16
1.3. Brown „hőerőgépek” hatásfoka [T5]	20
1.4. Általánosított hatásfok [T6]	24
1.5. Részecskék szeparálása [T7, T8]	27
1.6. Szupravezető vortexek eltávolítása [T9, T10, T11]	34
1.7. Molekuláris elektronpumpa [T12]	40
Összefoglalás	45
2. Molekuláris adhézió	47
Előzmények	47
2.1. Szétválás több energiagáton keresztül [T13]	52
2.2. Alternatív szétválási útvonalak [T14]	58
Összefoglalás	62
3. Membrán nanocsövek	63
Előzmények	63
3.1. Csövek kialakulása [T15, T16]	70
3.2. Csőhúzás nagyobb felületen [T17]	78
3.3. Csövek összeolvadása [T15, T18]	81
Összefoglalás	87

Köszönetnyilvánítás	89
A tézispontokhoz kapcsolódó saját publikációk	91
Irodalomjegyzék	93

Bevezetés

Dolgozatomban olyan kutatási témákat ismertetek, melyek a biológia és a fizika határterületére esnek. Klasszikusan ezt a határterületet *biofizikának* szokás nevezni. Az elmúlt évtizedben azonban, elsősorban a molekuláris biológia hallatlan fejlődésének köszönhetően, olyan új interdiszciplináris tudományágak jelentek meg, mint a *biológiai fizika* és a *biológia által motivált fizika*. Nehéz pontosan meghúzni a határt ezen három terület között. A kutatások nagy része több területet is érint egyszerre, a nagy tudományági konferenciák (mint pl. az International Biophysics Congress vagy az International Conference on Biological Physics) programjai között pedig általában nagy az átfedés. Most mégis megpróbálok felvázolni egy felosztást a tapasztalataim alapján.

A *biofizikát* talán úgy lehetne meghatározni, mint amelynek az elsődleges célja az, hogy fizikai módszereken alapuló vizsgálatokkal segítse a biológiai megismerést. Ide sorolnám többek között a számtalan mikroszkópiai és spektroszkópiai módszert vagy éppen az orvosi biofizika különböző területeit (EKG, MRI, ultrahang, stb.).

A *biológiai fizika* ezzel szemben a biológiai jelenségek mögött rejlő fizikai folyamatokat próbálja megérteni, és tágabb teret enged az elméleti megközelítéseknek és modellezésnek. Lássuk egy kicsit konkrétabban, hogy mire is gondolok. A fehérjék és lipidek szintézise, genetikai kódolásuk és szabályozásuk, biomolekulák szerkezete és funkciója alapvetően a biológiához (molekuláris biológia, genetika) tartoznak. Az viszont, hogy a fehérjék milyen termodinamikai elvek alapján működnek, a lipidek hogyan rendeződnek különféle membránstruktúrákba, miként alakul ki a sejtvázs és rendeződik át sejtmozgáskor, hogyan osztódnak a sejtek és szegregálódnak a megketőződött kromoszómák a születendő leánysejtekbe már sokkal inkább fizika. Az ilyen típusú, nanoskálájú problémák a statisztikus fizikának és a lágy anyagok fizikájának (soft condensed matter) módszereivel közelíthetők meg leginkább, és az én kutatásaim is ehhez a területhez kapcsolódnak a legszorosabban. Egy szinttel feljebb lépve, az

elő sejtek osztályozásával, tulajdonságaival, az egymással és a külvilággal való kölcsönhatásaikkal ismét a biológia (sejttan, mikrobiológia) foglalkozik. Azonban hogy a szervek és más többsejtű struktúrák (tüdő, agy, érhálózat, csontok, koralltelepek, ...) hogyan jönnek létre, megint jelentős mértékben a fizika hatáskörébe tartoznak. Tovább lépve az egyedek szintjére, ezek tulajdonságait, kölcsönhatásait ismételten a biológia (növény- és állatélettan, rendszertan, ökológia) írja le. Az élőlények kollektív viselkedésével vagy populációdinamikai és evolúciós modellezéssel viszont megint a fizikusok foglalkoznak. Ezen felül, az élővilág minden szintjét átszövik a hálózatok (genetikai szabályozási hálózatok, fehérje kölcsönhatási hálózatok, metabolikus hálózatok, ideghálózat, érhálózat, tápláléklánc, szociális hálózatok, stb.), melyek vizsgálata a statisztikus (és biológiai) fizikának egy nagyon dinamikusan fejlődő ágává nőtte ki magát az utóbbi néhány évben. A biológiai jelenségek fizikai megközelítéseinek fontos jellemzője, hogy elsősorban a megértést célozzák meg, és ennek érdekében (a biológiával ellentétben) a specifikumok elhagyása mellett csak a leglényegesebb és legszükségesebb folyamatokkal és paraméterekkel operálnak.

A *biológia által motivált fizika* már sokkal távolabb áll a biológiától. Olyan kutatási irányok tartoznak ide, amelyek a biológiai jelenségek modelljeit oly mértékben absztrahálják és alakítják tovább, hogy már nem sok kapcsolatuk marad az eredeti biológiai jelenségekkel. Ide sorolnám még azokat a fizikai kutatásokat is (pl. a nagy a jövő előtt álló nanofizika számos területét), amelyek a biológia által évmilliárdok alatt „kikísérletezett” és „kifinomított” elveket, jelenségeket, molekulákat próbálják a fizika más területein vagy a technológiában felhasználni.

Fizikusként a saját kutatásaimat is a biológia és a fizika határterületén végzem a pályám kezdete óta. Ezek négy nagy téma köré csoportosíthatók, melyek közül három a nanoskálájú biológiai rendszerek dinamikájával és közvetve a szerkezetével kapcsolatosak. E három témát tekintem át a dolgozat három fejezetében, részletesen ismertetve az ezekben elért eredményeimet. A három téma persze nem teljesen független, sok kapcsolódási pont van közöttük, és sokszor közősek a megközelítési módszereik is. Ezért az sem véletlen, hogy a világ számos elméleti és kísérleti kutatócsoportjában párhuzamosan kutatják őket. A saját kutatásaim ugyan kivétel nélkül elméleti jellegűek, de a legtöbb esetben szorosan kapcsolódnak valamilyen konkrét kísérlethez vagy kísérleti területhez. Ezen kutatások nagyrészt a biológiai fizikához sorolhatók, ugyanakkor néhányuk (többnyire az első fejezetben) óhatatlanul átcsúszik a biofizikába, ill. a biológia által motivált fizikába.

Az első fejezet a *Brown racsnikról* szól. Ezek olyan statisztikus fizikai modellek, amelyeket eredetileg a motorfehérjék (más néven molekuláris motorok) működésének a megértése céljából vezettek be. Ahogy a nevük is sugallja, a molekuláris motorok olyan fehérjék, amelyek haladó vagy forgó mozgásra képesek a sejteken belül. Lassan már több, mint egy évtizede, hogy a felfedezett motorfehérjék száma és a velük kapcsolatos kísérletek robbanásszerű fejlődésnek indultak. Ez tette szükségessé, hogy egységes keretek között lehessen értelmezni a működésüket, és hívta létre a Brown racsnikat. Ezeket a modelleket röviden úgy lehetne jellemezni, hogy periodikus, de aszimmetrikus energiafelületeket (potenciálokat) tételeznek fel, melyekben Brown részecskék mozognak, és közben nemegyensúlyi fluktuációknak vannak kitéve. A térbeli szimmetriának és a termodinamikai egyensúlynak az együttes megsértése vezet a részecskék átlagos mozgásának egyenirányítására. A Brown racsnik időközben a nanoskálájú mozgások egyik paradigmájává váltak, sokat vizsgálták őket elméleti módszerekkel, és számos technológiai alkalmazásukat is javasolták.

Kutatásaim során több, a Brown racsnikkal kapcsolatos problémakörrel foglalkoztam, számos kollégával együttműködve. Egyfelől, olyan modell megalkotásán dolgoztunk, amelyben néhány időállandó szabályozásával meg lehet változtatni a részecske haladási irányát. Ismeretes ugyanis, hogy szerkezetileg nagyon hasonló motorfehérjék képesek ellenkező irányba haladni. Másfelől, vizsgáltuk a Brown részecskék relaxációjának mechanizmusát, miután a potenciál, amelyben mozognak, hirtelen fluktuáció hatására megváltozik (ami gyakori jelenség számos biológiai, kémiai és fizikai folyamatnál). Tanulmányoztuk továbbá a Brown racsnik energiaátalakításának hatásfokát. Végül pedig, több olyan technológiai alkalmazást javasoltunk, amelyek a Brown racsnik működési elvén alapulnak.

A második fejezet a biomolekulák közötti *adhéziós kötések* dinamikájával foglalkozik. Az utóbbi néhány év molekuláris szintű kísérleti technikái ugyanis lehetővé teszik egyedi kötések szétszakítását külső húzóerők alkalmazásával. Ez, a dinamikus erőspektroszkópia néven ismertté vált módszer, részletes információt nyújt a kötések szétszakadása során végigjárt energiafelszín alakjáról. Az így megszerzett ismeretek más módszerekkel nem kaphatók meg, ugyanakkor alapvető fontosságúak a molekulák funkciója és dinamikája szempontjából.

A módszert egyre szélesebb körben alkalmazzák, ugyanakkor az elméleti háttér nem teljesen letisztázott. Több energiagát esetén pl. csak bizonyos speciális esetekben

volt használható az elmélet. Nem lehetett azt sem tudni, hogy milyen következményekkel jár, ha több útvonal mentén is végbemehet a kötés elszakadása. Kutatásainkkal ezeket a hiányosságokat szándékoztuk orvosolni. Az itt alkalmazott statisztikus fizikai módszerek sok rokonságot mutatnak a Brown racsniánál használatosakkal.

A harmadik fejezet a *membrán nanocsövek* dinamikájának leírását célozza meg. Ezek az objektumok biológiai membránokból, motorfehérjék húzásának vagy polimerizálódó filamentumok nyomásának segítségével keletkeznek. Ahogy a nevük is jelzi, a vastagságuk mindössze néhány száz nanométer, a hosszuk viszont akár a több mikront is elérheti. Biológiai jelentőségüket korábban alábecsülték, és csak mostanában kezd kiderülni, hogy egyre több (mind sejten belüli, mind pedig sejtek közötti) transzportfolyamatban van meghatározó szerepük. Ezen kívül, egyes sejszervecskék képesek nagy kiterjedésű és komplex nanocsőhálózatot létrehozni maguk körül.

A nanocsövek elméleti leírása ugyanakkor még nagyon hiányos. Ezt pótolandó, analitikus és numerikus módszerek segítségével megpróbáltuk megérteni a nanocsövek kialakulásának mechanizmusát. Kutatásaim során több olyan laboratóriummal is kapcsolatba kerültem, ahol a csövek kialakulását, összeolvadását vizsgálták a legmodernebb mikromanipulációs eljárások alkalmazásával. Elméleti számításaimmal sikerült magyarázatot adni a kísérleti megfigyelésekre, megérteni ezen jelenségek alapjait, és új mérési módszereket javasolni a (biológiai és mesterséges) membránok rugalmas paramétereinek meghatározására.

A könnyebb áttekinthetőség kedvéért, az egyes fejezetek és alfejezetek számozása megegyezik a tézispontokéval. Emellett még a tézispontokhoz kapcsolódó saját publikációk számozása is azonos a két dokumentumban, és feltüntetésre került az alfejezetek címei mellett.

Végül megemlíteném, hogy az utóbbi két-három évben aktívan dolgoztam a komplex (biológiai, szociológiai, technológiai, kognitív, ...) hálózatok dinamikájának és szerkezetének tanulmányozása terén is, melyből több (szám szerint 6 db.) publikációm született. Ez a téma azonban túl messze vezetne a biológiai nanorendszerek dinamikájával kapcsolatos kutatásaimtól, ezért nem kapott helyet a dolgozatban.

1. fejezet

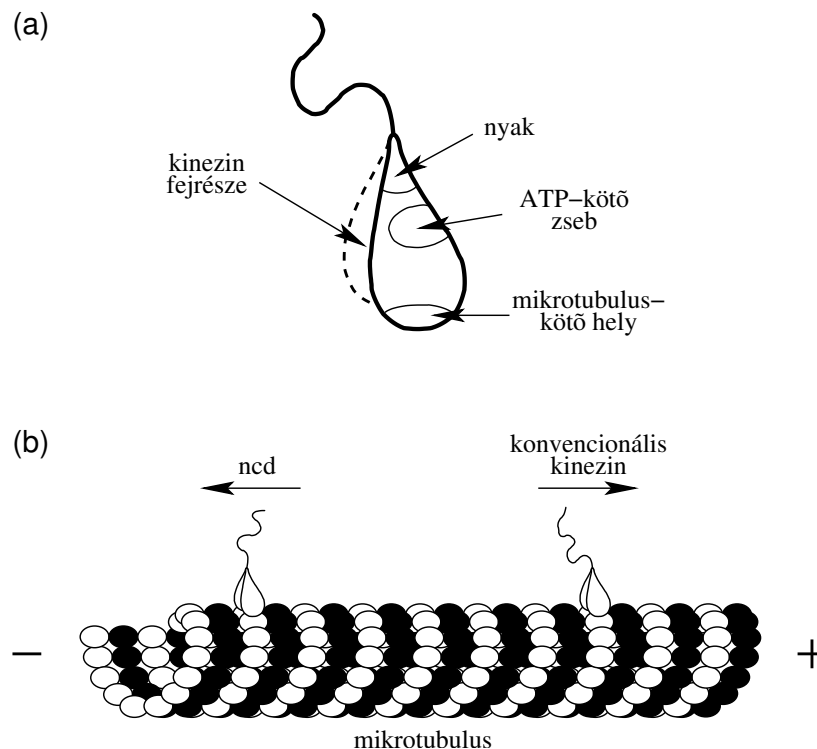
Molekuláris motorfehérjék, Brown racsnik és alkalmazásaik

Előzmények

A motorfehérjék (miozin, kinezin, dinein, ATP-szintáz, flagelláris motor, stb.) működésének vizsgálata egy nagyon aktív kutatási terület [1, 2, 3, 4, 5, 6]. Nemcsak biológiai jelentőségük, hanem potenciális nanotechnológiai alkalmazásaik miatt is. Motorfehérjék végzik a sejten belüli transzportfolyamatok nagy részét, formálják a sejteket és sejtservecskéket, hajtják a csillókat és ostorokat, és még az energiaforrásként használt ATP-t is forgó motorfehérjék gyártják le.

Két osztályukat szokás megkülönböztetni: a lineáris és a forgó motorokat. A lineáris motorfehérjék a sejtvázat alkotó különféle polimerszálak mentén haladnak. Így például a kinezinek és dineinek családjába tartozó motorok a mikrotubulusok mentén, a miozinok pedig (amelynek legismertebb feladata az izmok működtetése) az aktinszálak mentén. A kinezinekről az első alfejezetben még több szó fog esni (illusztrációként lásd az 1.1. ábrát). A lineáris motorok közös tulajdonsága, hogy diszkrét, nanométeres lépéseket tesznek, és ehhez az ATP molekulákban tárolt kémiai energiát használják fel.

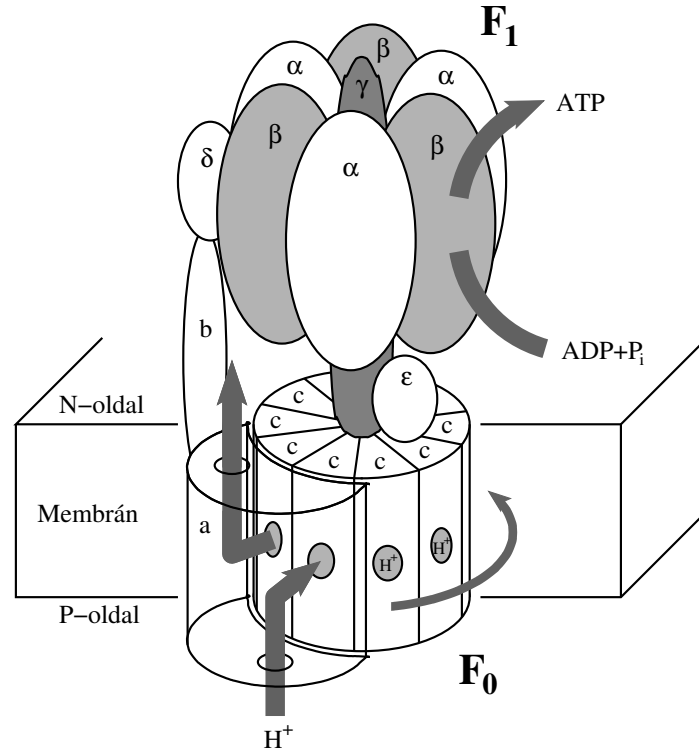
A forgó motorfehérjék, mint például az ATP-szintáz és a flagelláris motorok, membránhoz kötöttek, és ezek is diszkrét elfordulásokat végeznek. Energiaforrásként egy részük szintén ATP-t használ, más részük viszont valamilyen ionnak az elektrokémiai potenciálkülönbségét a membránon keresztül. Működésüket legkönnyebben az ATP-szintáz segítségével lehet szemléltetni (lásd az 1.2. ábrát). Ez ugyanis két, a γ -tengelyen keresztül egymással szembekapcsolt forgó motor együttese. A membránba



1.1. ábra. (a) Egy tipikus kinezin molekula sematikus szerkezete. (b) A kinezinek családjába tartozó legtöbb motorfehérje a mikrotubulusok „+” vége felé haladnak. A kevés kivétel egyike az ncd, amelyik a „-” vég felé halad.

ágyazott F_0 rész egy „proton turbina” [7, 8], amely minden egyes proton (H^+) átérésztésekor a magasabb elektrokémiai potenciálú P-oldalról az N-oldal felé, egy c aleggységnyit jobbra fordítja a γ -tengelyt. Az F_1 rész viszont önmágában egy ATP-vel működő forgó motor. Minden egyes ATP elhidrolizálásával 120° -kal balra fordítja a tengelyt [9, 10, 11]. Ennek a felfedezéséért kapott Paul Boyert 1997-ben Nobel díjat. Mivel normális körülmények között az F_0 rész „erősebb”, mint az F_1 , ez utóbbi a közös tengelyen keresztül kényszerítve van arra, hogy visszafelé forogjon, és így ahelyett, hogy ATP-t bontana, minden kör megtételével három ATP-t szintetizál.

A motorfehérjék működésének alapelve, amely a nano-skálájú mozgások egyik paradigmájává vált, nagyon egyszerűen és általánosan így fogalmazható meg: nem-egyensúlyi fluktuációk (pl. ATP-hidrolízis) irányított mozgást eredményezhetnek térben periodikus, de aszimmetrikus struktúrák (pl. mikrotubulusok, aktinszálak) mentén a hőmérsékleti fluktuációk kihasználásán keresztül. Az ezen elvre épülő modelleket Brown racsniknak (a szakirodalomban „ratchet”-eknek) szokás nevezni [12, 13, 14,



1.2. ábra. Az ATP-szintáz sematikus képe. Ez a fehérje két, egymással szembekepcst forgó motorból áll: az F_0 „proton turbinából” és az F_1 ATP-áz motorból. Normális körülmények között, miközben az F_0 -n átjutnak a protonok (H^+), a visszafelé hajtott F_1 az ATP molekulák szintézisére kényszerül. A részleteket lásd a szövegben.

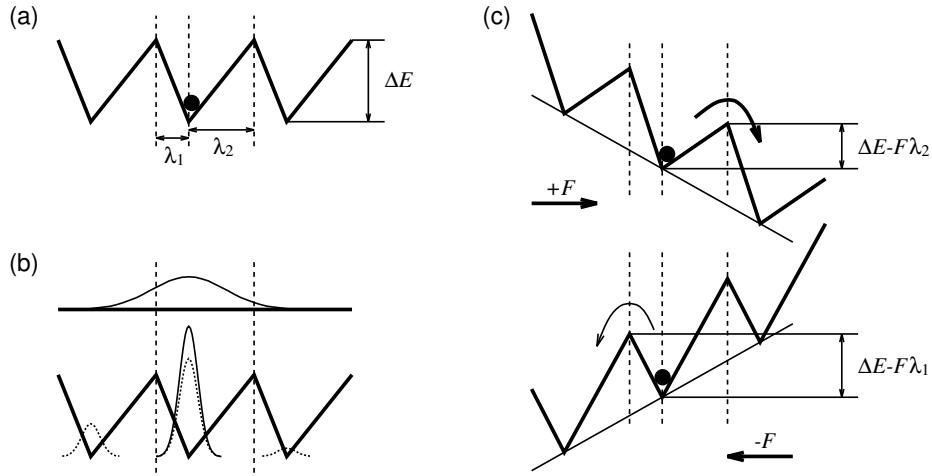
15, 16, 17, 18]. Forgó motoroknál természetesen a periodicitást a ciklikusság automatikusan biztosítja.

A molekuláris méretskálán tapasztalható alacsony Reynolds szám miatt egy Brown részecske mozgása egydimenzióban a következő túlszillapított Langevin egyenlettel írható le:

$$\gamma \dot{x} = -\partial_x U(x, t) + \gamma \sqrt{2D} \xi(t) , \quad (1.1)$$

ahol x jelöli a részecske helykoordinátáját, $U(x, t)$ a részecske által érzékelt és időben változó potenciált, γ a részecske súrlódási együtthatóját, a jobb oldal második tagja pedig a hőmérsékleti fluktuációkat reprezentálja. Ez utóbbi együtthatójában D a részecske diffúziós állandója, a $\xi(t)$ függvény pedig egy nulla időátlagú,

$$\langle \xi(t) \rangle = 0 , \quad (1.2)$$



1.3. ábra. Brown részecske mozgása (a) egy aszimmetrikus fűrészfog-potenciálban, melyet (b) ki-be kapcsolgatunk (váltakozó racsni – „flashing ratchet”) vagy (c) egy $\pm F$ erővel ide-oda billegtetünk (billegő racsni – „rocking ratchet”).

δ -korrelált,

$$\langle \xi(t)\xi(t') \rangle = \delta(t - t') , \quad (1.3)$$

fehér zaj. A súrlódási együtthatót és a diffúziós állandót az Einstein törvény köti össze:

$$D = \frac{k_B T}{\gamma} , \quad (1.4)$$

ahol k_B jelöli a Boltzmann állandót, T pedig az abszolút hőmérsékletet. Bizonyos esetekben a fenti sztochasztikus differenciálegyenletről áttérhetünk egy determinisztikus differenciálegyenletre, az úgynevezett Fokker-Planck egyenletre, amely a részecske megtalálási valószínűségének $\rho(x, t)$ az időfejlődését írja le:

$$\partial_t \rho(x, t) = L_{FP} \rho(x, t) , \quad (1.5)$$

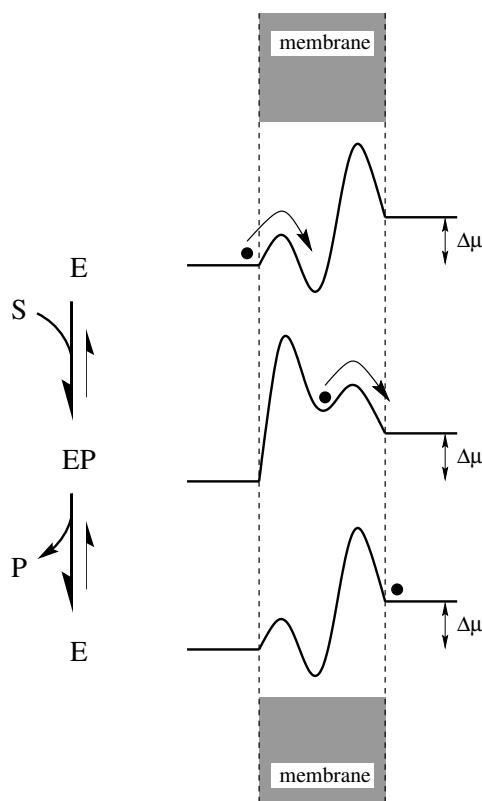
ahol L_{FP} a rendszer Fokker-Planck operátora.

A Brown racsniknak két alapmodelljét szokás megkülönböztetni: a váltakozó racsnit és a billegő racsnit, ahogy azt az 1.3. ábra illusztrálja. Az első esetben egy aszimmetrikus periodikus potenciált két állapot között váltogatunk nemegyensúlyi módon (legegyszerűbben egy fűrészfog-potenciált ki-be kapcsolgatunk adott frekvenciával), míg a második esetben egy aszimmetrikus periodikus potenciált (legegyszerűbben szintén egy fűrészfog-potenciált) billegtetünk ide-oda egy nulla időátlagú, $\pm F$ erővel.

A váltakozó racsni működését az 1.3.(b) ábra szemlélteti, ahol a Brown részecske megtalálási valószínűsége sűrűségének időfejlődését követhetjük nyomon. Kiindulásként tegyük fel, hogy a fűrészfog-potenciál be van kapcsolva, és a fűrészfogak ΔE magassága lényegesen meghaladja a $k_B T$ hőmérsékleti energiát. Ekkor a részecske az egyik völgy alján lokalizálódik (keskeny eloszlás folytonos vonallal rajzolva). Ki kapcsolva a potenciált, a részecske elkezd szabadon diffundálni (kiszélesedő eloszlás folytonos vonallal). Megfelelő idő múlva visszakapcsolva a potenciált, a részecske nagy valószínűséggel az eredeti vagy a tőle balra lévő völgybe esik vissza, és csak sokkal kisebb valószínűséggel a jobbra lévőbe, a potenciál aszimmetriája következtében (keskeny eloszlások pontozott vonallal). A többi völgy szerepe gyakorlatilag elhanyagolható. Így a potenciál ki-be kapcsolgatása egy átlagosan balra haladó mozgást idéz elő.

Az 1.3.(c) ábra szemlélteti a billegő racsni működését. Amikor az erő jobbra mutat ($+F$), akkor a jobbra ugrások fogják dominálni a részecske mozgását, méghozzá egy $e^{-(\Delta E - F\lambda_2)/k_B T}$ -vel arányos rátával. Amikor viszont az erő balra mutat ($-F$), a balra ugrások fognak dominálni egy $e^{-(\Delta E - F\lambda_1)/k_B T}$ -vel arányos rátával. És mivel $\lambda_1 < \lambda_2$, a kettő különbségéből egy átlagosan jobbra haladó mozgást kapunk.

Bár a racsni modellek megalkotását a motorfehérjék motiválták, R. D. Astumiannal közösen megmutattuk [T1], hogy az ionpumpák is (és általában minden molekuláris pumpa a biológiai membránokon keresztül) ilyen elven működnek. Ezt az 1.4 ábra segítségével lehet a legkönnyebben megérteni. Tegyük fel, hogy a pumpának mindössze két állapota van: egy E és egy EP jelű. Az E állapotban balról nyitott (vagyis alacsony az energiagátja a bal oldalán, de magas a jobb oldalán), és egy mélyen fekvő energiavölgy jellemzi. Az EP állapotban, ezzel szemben, a pumpa jobbról nyitott (vagyis alacsony a gát jobbra, de magas balra), és egy sokkal magasabban fekvő energiavölgy jellemzi. Ha tehát kezdetben az E állapotban van a rendszer, akkor nagy valószínűséggel balról fog bejutni egy ion. Átkapcsolva az EP állapotba, az ion szeretne kijutni az energetikailag kedvezőtlenre vált völgyből, és ezt nagy valószínűséggel jobbra, a kisebb gáton át teszi meg. A két állapot között váltogatva (amihez valamilyen $S \rightarrow P$ kémiai reakció, pl. $ATP \rightarrow ADP$, biztosítja az energiát) minden ciklusban nagy valószínűséggel egy ion jut át a membrán bal oldaláról a jobb oldalára. Ez annak ellenére is így történhet, hogy a jobb oldalon $\Delta\mu$ -vel magasabb az ion elektrokémiai potenciálja. Egy ionnak az átpumpálása a membránon keresztül tehát ekvivalens a váltakozó racsni képben a Brown részecskének egy periódusnyi haladásával.

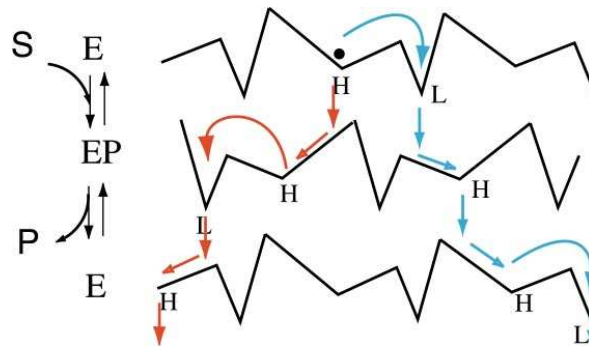


1.4. ábra. Az ionpumpák működési elve a váltakozó racsnik analógiájára.

1.1. Megfordítható mozgásirányú motorok [T1, T2]

A 90-es évek második felében a molekuláris motorfehérjék, és ezek közül is elsősorban a „konvencionális” kinezin, működésére számos konkrét modell született [19, 20], amelyekkel megpróbálták reprodukálni az rendelkezésre álló kísérleti eredményeket. Mára már azonban annyi szerkezeti és dinamikai adat gyűlt össze, hogy ezek együttes magyarázatához szinte atomi részletességű modellek szükségesek. Az alapelvek persze azóta is változatlanok: aszimmetrikus potenciálok nemegyensúlyi fluktuációi, ATP hidrolízis hatására.

A kinezin családba tartozó motorfehérjéről röviden annyit érdemes tudni, hogy általában dimerként funkcionálnak, és 8 nm-es lépésekkel haladnak a mikrotubulus nevű filamentumok mentén [21] (lásd az 1.1. ábrát). Ez a lépésköz egyebként, nem meglepő módon, megegyezik a mikrotubulus periodicitásával. Minden lépéshez 1 ATP-t használnak fel, és egészen 6 pN-ig terhelhetők [22]. Ebből azonnal adódik, hogy az ATP-ben tárolt, közel 100 pNnm kémiai energiát nagyon nagy, 50%-ot is



1.5. ábra. Váltakozó racsnitípusú modell a mozgásirány változtathatóságára. Ha az E állapotból lassú az átmenet az EP-be (vagyis az E állapotban van idő relaxálni a mélyebb energiájú völgybe), de gyors az EP-ből az E-be (az EP-n nincs idő relaxálni), akkor majdnem minden ciklusban egy periódussal jobbra lép a részecske (világos szürke nyilak). Ha gyors az E-ből, de lassú az EP-ből való átmenet, akkor a mozgás épp az ellenkezője lesz (sötét szürke nyilak).

megközelítő hatásfokkal képesek mechanikai munkává alakítani. Terheletlenül a sebességük elérheti az $1 \mu\text{m/s}$ -ot [4].

A mikrotubulusnak, lévén egy aszimmetrikus filamentum, meg szokás különböztetni az úgynevezett „+” és „-” végét. A kinezin család tagjai szinte kizárólag csak a mikrotubulus „+” vége felé haladnak. A kevés kivétel egyike az ncd nevű motorfehérje, amelyik épp az ellenkező, a „-” vég felé halad [23] (lásd az 1.1. ábrát). Különös módon az ncd szerkezetileg nagyon hasonlít a többi kinezinhez [24] és még a mikrotubulusra is hasonló orientációban kötődik [25], kizárva annak a lehetőségét, hogy az ellenkező irányultság oka az ellentétes irányú kötődés lenne. További meglepetést jelent, hogy az a hibrid fehérje, amelynek a fejrésze (ami a mikrotubulus-kötőhelyet is magában foglalja) az ncd-től származik, de a nyakrésze egy konvencionális kinezintől, a „+” irányba halad [26, 27]. Ez azt jelenti, hogy a haladási irányt a mikrotubulus-kötőhelytől távol eső nyaki részek szabályozzák.

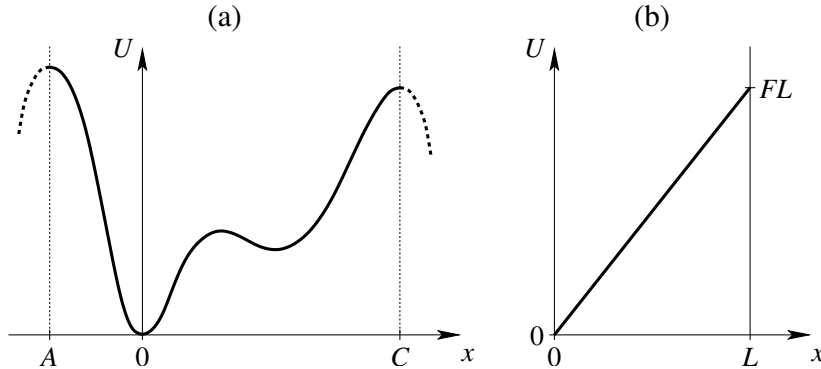
Annak a kérdésnek az eldöntésére, hogy a kinezin feje és a mikrotubulus közötti kölcsönhatási potenciál megváltoztatása nélkül lehet-e a mozgásirányt befolyásolni, a következő váltakozó racsnitípusú modellt dolgoztuk ki [T1]: Ahogy az 1.5. ábra is illusztrálja, a kölcsönhatást egy olyan periodikus potenciállal jellemezzük amely két állapot között fluktuál. Mindkét állapotban periódusonként két potenciálvölgy található (egy L-el jelölt keskenyebb mély és egy H-val jelölt szélesebb sekély). A két

állapot közötti lényeges különbség abban rejlik, hogy míg az egyikben (E jelű) a sekély völgytől jobbra található az alacsonyabb energiagát, addig a másikban (EP jelű) balra. Ha most feltesszük, hogy a potenciál elég hosszú időt tölt az E állapotban, akkor ott a részecske nagy valószínűséggel bele fog találni a mélyebb potenciálvölgybe (világos szürke nyíl). Ha viszont az EP-be való átmenet után túl gyorsan következik be az E-be való visszaváltás, akkor az EP-n a részecskének nem jut ideje a sekélyebb völgyből átugrania a mélyebbe. Emiatt aztán az E-be történő visszaváltáskor a részecske egy periódussal jobbra kerül. Ennek épp az ellenkezője történik, ha a potenciál kevés időt tölt az E állapotban, viszont megfelelően sokat az EP-ben (sötét szürke nyilak).

Ez a modell rávilágít arra a tényre, hogy a mikrotubulus és a motorfehérje közötti kölcsönhatás megváltoztatása nélkül (ahogy ez a hibrid molekula esetében is történt), csupán az ATP-hidrolízis ciklusa során az egyes állapotokban eltöltött idő hangolásával szabályozható a fehérje haladási iránya. Ezt az alapmodellt a kétféjű kinezin molekula mozgásának részletes modelljébe beültetve sikeresen reprodukáltunk számos kísérleti eredményt [T2]. A modell megalkotása óta eltelt közel nyolc évben azonban elég valószínűvé vált, hogy nem egyszerű időzítésen múlik a kinezinek mozgásirányának kiválasztása. Ennek ellenére ez volt az első olyan racsni modell, amely az átmeneti ráták hangolásával képes szabályozni a részecskék átlagos haladási irányát és sebességet. Mivel az időzítéseket gyakran könnyebb befolyásolni, mint a kölcsönhatásokat, ez az elv még számos alkalmazási lehetőséget (pl. részecskék szeparálása) hordoz magában.

1.2. Relaxáció potenciálvölgyben [T3, T4]

Mint az az előzőekből kiderült, a molekuláris motorfehérjék működésénél, de sok más biológiai, kémiai, fizikai folyamatnál is, a potenciálfelületek megváltozásának központi jelentősége van. Minden egyes változás után időre van szükség, hogy a rendszer az új környezethez adaptálódjon, és a potenciálvölgyekben a rendszert (részecskét) leíró valószínűsűrsűrűség-függvény lokális egyensúlyba kerüljön. Ez a völgybeli relaxációs idő („intra-well relaxation time”, IRT) egy nagyon fontos jellemzője az aktuális folyamatnak. Ha ugyanis a potenciálváltozások karakterisztikus ideje lényegesen hosszabb, mint az IRT, akkor jó közelítéssel minden pillanatban a völgyön belüli eloszlás (lokálisan) egyensúlyinak tekinthető, és a folyamat reakciókinetikai modellekkel kezelhető. Ellenkező esetben ez az adiabatikus közelítés érvényét veszti, és ezzel



1.6. ábra. (a) Illusztrációja egy A és C határok közötti potenciálvölgynek. (b) F merekségű lineáris potenciál a $[0, L]$ zárt intervallumon.

párhuzamosan, a folyamat leírásához egy sokkal részletesebb Langevin vagy Fokker-Planck típusú tárgyalásmód szükséges.

Nincs egyértelmű definíciója az IRT-nek. A relaxáció nem exponenciális, és különböző módon zajlik le a völgy különböző pontjain. Egy természetes választás lehetne a rendszert leíró Fokker-Planck operátor legkisebb el nem tűnő sajátértékének inverze, τ_{FP} . Egy másik lehetőség a korrelációs idő, τ_{corr} , amelyet úgy definiálunk, mint a normált autokorrelációs függvény alatti terület, $\int_0^\infty C(t)/C(0) dt$, ahol $C(t) = \langle x(0)x(t) \rangle - \langle x(0) \rangle^2$ a részecske $x(t)$ helyzetének (vagyis a rendszer reakciókoordinátájának) autokorrelációs függvénye, és a $\langle \dots \rangle$ jelöli az egyensúlyi sokaságra vett átlagot [28, 29].

A fenti választások nagy hátránya, hogy a relaxációt elsősorban a völgy alján jellemzik, ahol a valószínűség nagy része található. A legtöbb esetben viszont (pl. energiagáton való áthaladás, kémiai reakciók) a relaxáció az egész völgyben lényeges. Ezen hiányosságok kiküszöbölése céljából vezettünk be egy új definíciót az IRT-re, amely egyszerű analitikus formában adható meg tetszőleges egydimenziós potenciál esetén [T3].

Potenciálvölgyről akkor van értelme beszélni, ha az lényegesen mélyebb, mint $k_B T$. Ekkor viszont a völgyön belüli relaxációt csak nagyon kis mértékben befolyásolja a völgy szélén történő gyenge kiszökés, ezért legelőször is foglalkozunk egy A és C határok közötti zárt völgygel, ahogy azt az 1.6.(a) ábra is mutatja. Egy zárt $U(x)$ potenciálban viszont az egyensúlyi eloszlás nem más, mint a Boltzmann eloszlás:

$$\rho_B(x) = \frac{1}{Z_B} e^{-U(x)/k_B T}, \quad \text{ahol} \quad Z_B = \int_A^C e^{-U(x)/k_B T} dx. \quad (1.6)$$

Az IRT definíciójához felhasználjuk a statisztikus fizikában jól ismert átlagos első elérési idő („mean first passage time”, MFPT) fogalmát, $\mathcal{T}[x_0 \rightarrow x]$, amely azt adja meg, hogy egy adott x_0 kezdőpontból a részecske diffúziója során átlagosan mennyi idő múlva éri el először az x pontot. Az MFPT levezetése és analitikus alakja megtalálható a klasszikusnak számító [30] könyv 5.2.7 alfejezetében:

$$\mathcal{T}[x_0 \rightarrow x] = \frac{1}{D} \int_{x_0}^x \int_A^y e^{[U(y)-U(z)]/k_B T} dz dy \quad \text{ha } x_0 \leq x, \quad (1.7)$$

$$\mathcal{T}[x_0 \rightarrow x] = \frac{1}{D} \int_x^{x_0} \int_y^C e^{[U(y)-U(z)]/k_B T} dz dy \quad \text{ha } x \leq x_0. \quad (1.8)$$

Az MFPT egyik alaptulajdonsága, hogy additív a következő értelemben:

$$\mathcal{T}[x_0 \rightarrow x_1] + \mathcal{T}[x_1 \rightarrow x_2] = \mathcal{T}[x_0 \rightarrow x_2], \quad (1.9)$$

feltéve, hogy $A \leq x_0 \leq x_1 \leq x_2 \leq C$.

Ha most az $U(x)$ potenciálban drasztikus módon egy tetszőleges x_0 helyre lokalizáljuk a részecskét, akkor az egyensúlyi eloszláshoz való relaxációs idejét úgy becsülhetjük meg, hogy $\mathcal{T}[x_0 \rightarrow x]$ -t kiátlagoljuk az x végpontra, mégpedig a Boltzmann eloszlás szerint, hiszen épp ezzel az eloszlással arányos valószínűségnek kell minden egyes x pontba eljutnia. Az integrálok algebrai átrendezésével könnyen belátható, hogy ez az átlagos idő független az x_0 kezdőponttól, így magára a potenciálra jellemző, ezért választhatjuk az IRT egy lehetséges definíciójának:

$$\begin{aligned} \tau_{\text{IRT}} &\equiv \langle \mathcal{T}[x_0 \rightarrow x] \rangle_x \equiv \int_A^C \mathcal{T}[x_0 \rightarrow x] \rho_B(x) dx = \\ &= \frac{1}{D Z_B} \int_A^C \int_x^C \int_y^C e^{[-U(x)+U(y)-U(z)]/k_B T} dz dy dx. \end{aligned} \quad (1.10)$$

Az x_0 -tól való függetlenség egyben azt is jelenti, hogy tetszőleges eltérés az egyensúlyi eloszlástól eltűnik ennyi idő alatt, ezért τ_{IRT} valóban jól jellemzi a völgyön belüli relaxációt. Sőt akár úgy is tekinthetünk rá, mint az az idő, ami ahhoz szükséges, hogy teljesen újrendeződjön (újrakeveredjen) az egyensúlyi eloszlás a potenciálvölgy belsőjében.

Ha az x_0 kezdőpontot a völgy aljába képzeljük, akkor az MFPT egy sokkal magasabban fekvő x pontba exponenciálisan nő. Ugyanakkor a Boltzmann eloszlás exponenciálisan csökken. Ez tehát arra utal, hogy τ_{IRT} -hez a potenciálfelület minden pontja hasonló súllyal ad járulékot, és nemcsak a völgy alján elhelyezkedő pontok.

Egy másik érv a definíciónk mellett a következőképpen szól. Tekintsük először a részecske eljutását A -ból C -be. Mivel C a legtávolabbi pont A -tól, a valószínűségi sűrűség ott relaxálódik legutoljára (ha kezdetben egy δ -függvény volt A -ban). Ezért a C -be való eljutás két alig átfedő részfolyamatra osztható: egy völgyön belüli relaxációra A -ból, majd pedig az egyensúlyi eloszlásból a C -be történő eljutásra. Így aztán az első részfolyamat ideje, ami maga az IRT, kifejezhető úgy, mint A -ból C -be történő MFPT ($T[A \rightarrow C]$) és az egyensúlyi eloszlásból a C -be történő MFPT ($\langle T[x \rightarrow C] \rangle_x$) különbsége. Az MFPT additivitása következtében ez a különbség nem más, mint $\langle T[A \rightarrow x] \rangle_x$, vagyis maga a τ_{IRT} .

Ez az érv is azt jelzi, hogy τ_{IRT} jellemzi a leglassúbb relaxációs folyamatot, nevezetesen a valószínűségi sűrűség-függvény relaxációját az intervallum egyik végpontjában, ha egy δ -függvényből indulunk ki a másikban. Így aztán nem meglepő, hogy τ_{IRT} sok esetben lényegesen nagyobb, mint τ_{FP} vagy τ_{CORR} . Tekintsük pl. az F meredekségű lineáris potenciált (amelyre a Fokker-Planck egyenlet könnyen megoldható) a $[0, L]$ zárt intervallumon, ahogy az 1.6.(b) ábra mutatja. Amennyiben $FL \gg k_B T$, a definíciónk $\tau_{\text{IRT}} \approx \gamma L / F$ értéket eredményez (ami egyszerűen az F/γ sebességű lecsúszás ideje), teljes összhangban a várakozásunkkal. Ezzel szemben $\tau_{\text{FP}} \approx \tau_{\text{CORR}} \approx 2\gamma k_B T / F^2$, ami független L -től, alátámasztva, hogy ez utóbbi mennyiségek valóban csak a völgy diffúzió által dominált alsó részén jellemzik a relaxációt.

Megvizsgálva egy másik szélsőséges esetet, amikor is egy második, viszonylag mély potenciálvölgy is található az $[A, C]$ intervallumon, azt kapjuk, hogy $\tau_{\text{IRT}} \approx 1/(k^+ + k^-)$, ahol k^+ és k^- jelöli a két völgy közötti kinetikus (átmeneti) rátákat. Ez a kifejezés nem más, mint a völgyek betöltését jellemző valószínűségek időfejlődését leíró kinetikus egyenlet karakterisztikus ideje. A definíciónk tehát helyesen adja vissza a relaxációs időt még ebben a szélsőséges esetben is.

Különböző típusú fluktuáló potenciálfelületekre numerikusan is igazoltuk, hogy valóban τ_{IRT} az az időskála, amelynél lassúbb változásokra az eloszlás már minden pillanatban relaxáltnak tekinthető [T3].

Ha megengedjük, hogy a potenciálvölgyet elhagyja a részecske, akkor a relaxáció nem a Boltzmann eloszláshoz tart, hanem egy lassan csökkenő amplitúdójú kvázistacionárius eloszláshoz. Ebben az esetben is definiálható az IRT, ami szintén felírható analitikusan (csak éppen a hármas integrál helyett egy négyes integrállal), de mivel elég mély völgyek esetén ez alig valamivel ad kisebb értéket, mint a τ_{IRT} , nem érdemes vele külön foglalkozni [T3].

Részletesen vizsgáltuk a relaxációt monoton módon emelkedő oldalú potenciál-völgyben [T4]. Megmutattuk, hogy az az esemény („instanton”), amely során a részecske a völgy alsó pontját utoljára érintve felszalad egészen a gát tetejéig éppen olyan gyorsan játszódik le, mint az ezzel ellentétes irányú esemény, vagyis amikor a részecske a gát tetejéről (gyakorlatilag determinisztikus módon) lecsúszik a völgy aljába. Mivel az általunk definiált τ_{IRT} is jó közelítéssel megegyezik ezzel az idővel, újabb szemléletes képet kaptunk az IRT fizikai jelentéséről: Eszerint tehát akkor lehet minden pillanatban relaxálnak tekinteni a rendszert, ha a potenciál fluktuációjának karakterisztikus ideje lényegesen hosszabb, mint a völgy oldalán való felfutás vagy lecsúszás ideje. Ez az adiabatikus közelítés csak akkor romlik el ha a fluktuáció olyan gyors, hogy már a felfutás és lecsúszás közben is gyakran, ill. jelentős mértékben megváltozik a potenciál.

1.3. Brown „hőerőgépek” hatásfoka [T5]

Motorfehérjék és racsni modellek esetén a leggyakrabban vizsgált mennyiség a részecske sebessége. Ugyanakkor, mivel a motorok elsődleges feladata valamilyen teher húzása, egy másik lényeges mennyiség az energiaátalakítás hatásfoka. Ráadásul a maximális hatásfokot a rendszer nagyon más paraméterek mellett érheti el, mint a maximális sebességet.

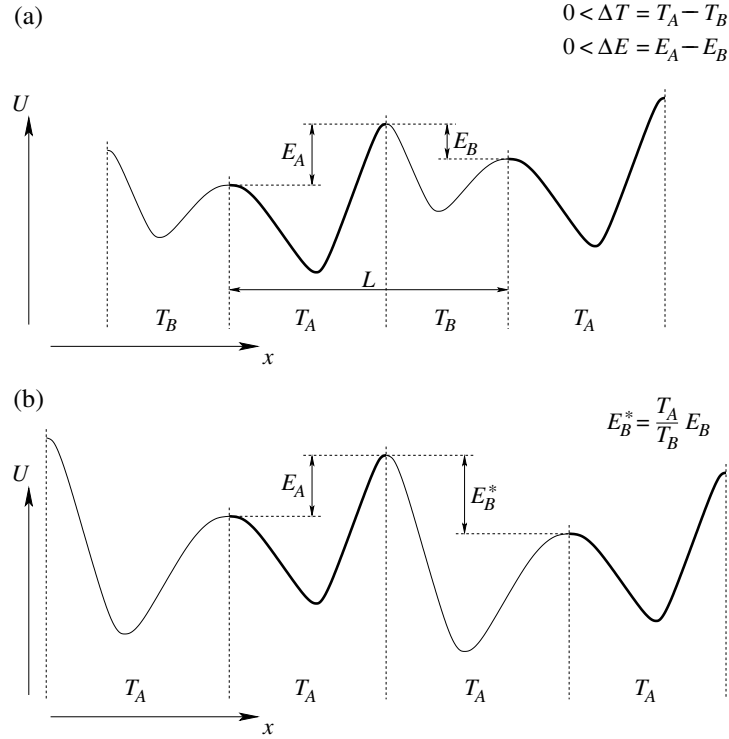
Bár a motorfehérjék gyakorlatilag izoterm környezetben mozognak, és kémiai kötésekben vagy elektrokémiai potenciálban tárolt szabadenergiával működnek, elméleti szempontból érdemes megvizsgálni a hőmérsékletkülönbségen alapuló mozgást. Annál is inkább, mert Feynman a híressé vált kilincs-kerék elrendezését (angolul „ratchet and pawl”, ahonnan a Brown racsnik is a nevüket kapták) éppen a termodinamika második főtételeinek illusztrálására találta ki [31]. Megmutatta, hogy ilyen jellegű gépek az aszimmetriájuk ellenére sem végezhetnek munkát termikus egyensúlyban. Két különböző hőmérsékletű hőtartályhoz kapcsolva viszont munkát képesek végezni, melynek hatásfoka tetszőlegesen megközelítheti a Carnot ciklusét. Felvetődik tehát a kérdés, hogy a Brown racsnik milyen egyéb módokon kapcsolható hőtartályokhoz, és így milyen hatásfokot érhetnek el. Elgondolkodtató az is, hogy ha az élet mélytengeri hőforrások közelében alakult ki, akkor talán az első élőlények felhasználhatták a hőmérsékletgradiensek által nyújtott lehetőségeket a működésükhöz.

A Brown „hőerőgépeknek”, vagyis hőmérsékletkülönbséggel hajtott Brown racsniknak három alaptípusát különböztethetjük meg, amelyek a T_A és T_B hőmérsékletű tartályokhoz való csatolásban különböznek egymástól. Az elsőben, ahova a Feynman-féle kilincs-kerék is tartozik, a Brown részecske mindkét hőtartályhoz egyszerre kapcsolódik. Feynman eredeti számolásáról utóbb kiderült [32, 33], hogy nem volt teljesen konzisztens: a berendezés nem működhet reverzibilisen, és így a Carnot hatásfokot sem érheti el. Sőt mi több, a kvázisztatikus határesetben a hatásfoka egyszerűen leesik nullára. Ennek az az oka, hogy egy olyan részecske, amely két hőtartállyal is kapcsolatban van, nem lehet termikus egyensúlyban. A melegebb tartály folyamatosan próbálja emelni a részecske (kinetikus és potenciális) energiáját, amit aztán a részecske a hidegebb tartály felé folyamatosan lead. Így a részecske átvezeti a hőt a melegebb tartályból a hidegebbe.

A második alaptípusban a részecske helyétől függetlenül, időben változtatjuk, hogy éppen melyik hőtartállyal álljon kapcsolatban [34]. Ez analóg a váltakozó racsnikkal: a hőmérséklet magas értékre emelése pl. hasonló a potenciál kikapcsolásához. Itt is, mivel a melegebb hőtartály megnöveli a részecske átlagos (kinetikus és potenciális) energiáját, a hidegebb pedig lecsökkenti, kialakul egy irreverzibilis hőáram a két tartály között. Ez a hőáram szintén a kvázisztatikus határesetben a legproblematisabb, ahol nullára csökkenti a hatásfokot.

A harmadik alaptípusban a részecske a helyétől függően áll kapcsolatban hol az egyik, hol a másik hőtartállyal [35, 36], ahogy ezt az 1.7.(a) ábra is illusztrálja. Megmutattuk, hogy egy ilyen rendszerben a részecske potenciális energiáján keresztül folyó hőáram reverzibilis a kvázisztatikus határesetben, a kinetikus energián keresztül folyó hőáram pedig bizonyos esetekben tetszőlegesen lecsökkenthető, így a Carnot hatásfok, bármennyire megközelíthető [T5].

Tekintsük egy γ súrlódási együtthatójú Brown részecske mozgását egy $U(x)$ potenciálban. A potenciál (lásd az 1.7.(a) ábrán) álljon egy L periódushosszú racsnitípusú potenciál és egy $\Delta E/L$ (> 0) meredekségű lineáris potenciál összegéből. Ez utóbbi nélkülözhetetlen a hatásfok méréséhez, hiszen csak így biztosítható, hogy a részecske jobbra haladva munkát végezzen (periódusonként ΔE -t jelen esetben). A potenciál mentén a $T(x)$ hőmérséklet váltakozzon T_A és T_B értékek között, szintén L periódussal. Tegyük fel, hogy $T_A > T_B$. Jelölje E_A az össz-potenciálváltozást a T_A hőmérsékletű tartomány(ok)on egy perióduson belül, és $-E_B$ a T_B hőmérsékletű tartomány(ok)on. Így tehát $\Delta E = E_A - E_B$.



1.7. ábra. (a) Racsni típusú potenciál helytől függő hőmérsékleten. (b) A T_B hőmérsékletű szakaszok átskálázása után megváltozik a potenciál periódusonkénti emelkedése. A rendszer akkor végez pozitív munkát, ha ez az emelkedés előjelet vált: $E_A - E_B^* < 0$.

A részecske mozgását a

$$\gamma \dot{x} = -U'(x) + \sqrt{2\gamma k_B T(x)} \xi(t) \quad (1.11)$$

túlszabályozott Langevin egyenlettel írhatjuk le, ami nagyban hasonlít az (1.1) egyenlethez. Mivel a Langevin egyenlet invariáns a

$$\{T, U, x\} \rightarrow \{\kappa T, \kappa U, \sqrt{\kappa} x\} \quad (1.12)$$

transzformációra, eliminálhatjuk a hőmérséklet helyfüggését, ha $\kappa = T_A/T_B$ választása mellett alkalmazzuk ezt a transzformációt a T_B hőmérsékletű szakaszokon, ahogy az 1.7.(b) ábra mutatja. A transzformáció csak a szakaszok határán okoz problémát a sebesség hirtelen megváltozása miatt, ezért a határon bekövetkező kinetikus energia-változást majd külön fogjuk tárgyalni. A transzformáció következtében a hőmérséklet mindenütt T_A lesz, E_B átranszformálódik $E_B^* = E_B T_A/T_B$ -re, és így a potenciál-változás periódusonként $E_A - E_B^*$ -gá alakul. Ebből azonnal láthatjuk, hogy annak a

feltétele, hogy a részecske J árama (átlagsebessége per periódushossz, periódusonként 1-re normált valószínűsége sűrűséget feltételezve) pozitív legyen, és így pozitív,

$$J_W = J \Delta E, \quad (1.13)$$

teljesítménnyel végezzen munkát, egyszerűen az, hogy a transzformált potenciál a pozitív irányba lejtson ($E_A - E_B^* < 0$):

$$0 < \alpha = \frac{E_B}{T_B} - \frac{E_A}{T_A} = \frac{\Delta T E_A - T_A \Delta E}{T_A T_B}. \quad (1.14)$$

A hatásfok kiszámításához szükségünk van még a bemenő teljesítményre, amely nem más, mint a J_Q kifolyó hőáram a melegebb (T_A hőmérsékletű) hőtartályból. Ezt két részre oszthatjuk:

$$J_Q = J_Q^{\text{kin}} + J_Q^{\text{pot}}, \quad (1.15)$$

ahol

$$J_Q^{\text{pot}} = J E_A \quad (1.16)$$

a részecske potenciális energiáján keresztül kifolyó hőáram, ugyanis minden alkalommal, amikor a részecske egy periódust előrehalad, E_A potenciális energiát vesz fel a melegebb hőtartályból (amikor pedig visszafelé megy egy periódust, akkor E_A potenciális energiát táplál vissza a ugyanebbe a hőtartályba). A J_Q^{kin} hőáramot a részecske kinetikus energiáján keresztül bonyolultabb meghatározni: Minden alkalommal amikor a részecske belép egy T_A hőmérsékletű szakaszra, átlagosan $k_B \Delta T/2$ -vel növeli meg a kinetikus energiáját a melegebb hőtartály rovására. Amikor viszont kilép ebből a szakaszból, a fölös $k_B \Delta T/2$ kinetikus energiát a hidegebb hőtartálynak adja le. Innen látszik, hogy ez a hőáram természetszerűleg irreverzibilis. Az, hogy a részecske hányszor megy át a határon a melegebb oldal felől a hidegebbe, nagy mértékben függ a rendszer paramétereitől, de periódusonként legalább egyszer, amelyből következik, hogy

$$J_Q^{\text{kin}} \geq J k_B \Delta T/2. \quad (1.17)$$

Ezek alapján a rendszer hatásfoka így írható:

$$\eta = \frac{J_W}{J_Q} = \frac{1}{1 + \Theta} \eta_{\text{pot}}, \quad (1.18)$$

ahol

$$\eta_{\text{pot}} = \frac{J_W}{J_Q^{\text{pot}}} = \frac{\Delta E}{E_A} \quad (1.19)$$

lenne a hatásfok a kinetikus energia figyelmen kívül hagyásával, és

$$\Theta = \frac{J_Q^{\text{kin}}}{J_Q^{\text{pot}}} \geq \frac{1}{2} \frac{k_B \Delta T}{E_A} \quad (1.20)$$

a korrekciós tag az irreverzibilis hőáram miatt. Összehasonlítva η_{pot} -ot a $\eta_{\text{Carnot}} = \Delta T/T_A$ Carnot hatásfokkal kapjuk, hogy

$$\frac{\eta_{\text{pot}}}{\eta_{\text{Carnot}}} = \frac{T_A \Delta E}{\Delta T E_A} = 1 - \frac{T_A T_B}{\Delta T E_A} \alpha. \quad (1.21)$$

Ez az eredmény is mutatja, hogy a kvázisztatikus határesetben ($\alpha \rightarrow 0$) a potenciális energián keresztül történő hőáram reverzibilis, mert η_{pot} a Carnot hatásfokhoz tart, a rendszer minden más paraméterétől függetlenül. A Brown hőerőgépeknek első két alaptípusában ez nincs így, azoknál már a hőáramnak ez a része is irreverzibilis.

Ezen kívül az is megmutatható [T5], hogy nagyon speciális módon, hangolhatók úgy a paraméterek, hogy még a kinetikus energián keresztül történő irreverzibilis hőáram ellenére is a Carnot hatásfok tetszőlegesen megközelíthető legyen.

1.4. Általánosított hatásfok [T6]

Ahogy az előbbiekből is kiderült, hagyományos értelemben csak akkor beszélhetünk hatásfokról, ha a rendszer „hasznos” munkát végezhet valami külső terhelőerő ($\Delta E/L$ az előző példában) ellenében. Számos motorfehérje azonban nem ilyen célokat szolgál, hanem hogy egyszerűen molekulákat vagy vezikulumokat szállítson a sejtben egyik helyről a másikra. Hagyományos módon ilyen esetekben nulla hatásfokot kéne megállapítanunk. Ha viszont terhelőerőt kapcsolunk rájuk, könnyen megeshet, hogy megzavarjuk a működésüket, és ezért értelmetlen eredményt kapunk. Valahogyan mégiscsak célszerű lenne jellemezni értelmetlen eredményt. Valahogyan mégiscsak célszerű lenne jellemezni ezen motorok energiafelhasználásának hatékonyságát, a természetes működésük során. Ez lehetőséget nyújtana arra is, hogy különböző típusú motorok energiaátalakítását kvantitatíven összehasonlíthassuk.

Ebből a célból terjesztettük ki a hatásfok definícióját oly módon, hogy nem magát az elvégzett W munkát viszonyítjuk az E_{in} befektetett energiához, hanem a feladat elvégzéséhez minimálisan szükséges $E_{\text{in}}^{\text{min}}$ befektetett energiát [T6]. Ezt az

$$\eta_{\text{gen}} = \frac{E_{\text{in}}^{\text{min}}}{E_{\text{in}}} \quad (1.22)$$

hányadost, ami szükségszerűen egy 0 és 1 közé eső mennyiség, neveztük el általánosított hatásfoknak.

Ha az elvégzendő feladat egyszerűen egy F terhelőerőn való munkavégzés, akkor visszkapjuk a hagyományos hatásfokot (Fs/E_{in}), hiszen egy s út megtételéhez minimálisan szükséges befektetett energia éppen Fs , vagyis maga az elvégzett munka. Ha azonban ezen felül még azt is előírjuk, hogy az s utat adott t idő alatt (vagyis adott $v = s/t$ átlagsebességgel) kell megtenni (γ súrlódási együttható mellett), akkor az általánosított hatásfok így írható:

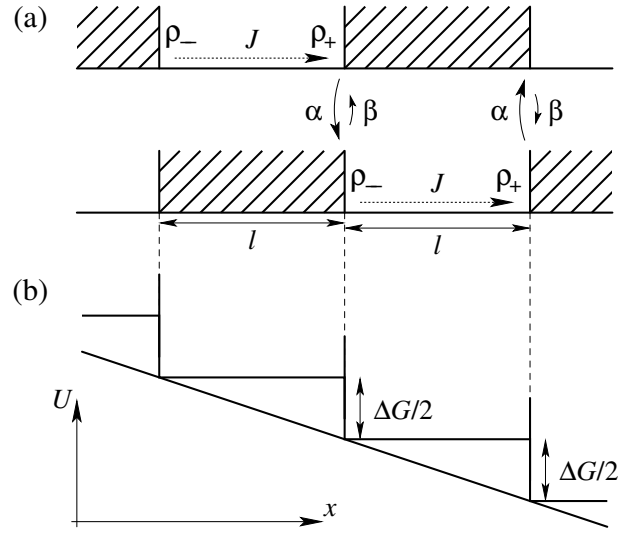
$$\eta_{\text{gen}} = \frac{(F + \gamma v)s}{E_{\text{in}}} , \quad (1.23)$$

illetve teljesítmények nyelvén:

$$\eta_{\text{gen}} = \frac{Fv + \gamma v^2}{\mathcal{P}_{\text{in}}} , \quad (1.24)$$

ahol \mathcal{P}_{in} jelöli a felvett teljesítményt. Ez egy roppant egyszerű kiterjesztése a hatásfoknak, mégis nagy hatással volt a későbbi kutatásokra. A motorfehérjék és racsni modellek hatásfokának vizsgálatára azóta többnyire ezt a definíciót használják (eddig 26 tudományos cikkben).

Hogy érzékeltesük a definíció szükségességét, nézzünk egy olyan racsni modellt, amelynek nagyon jó az általánosított hatásfoka, ugyanakkor már kis terhelést rákapcsolva is drasztikusan lecsökken a sebessége és megváltozik a működése. Ez pedig legyen a váltakozó racsni egyik fajtája, az információs racsni [37], melyet az 1.8.(a) ábra illusztrál. A potenciál mindkét állapotában szabadon diffundálhat egy Brown részecske a bevonalkázatlan tartományokon. Ezt a diffúziót egyenirányítják a kémiai átmenetek a tartományok szélén, ugyanis a jobb oldali határon nagyobb az átmeneti ráta (α), mint a bal oldalin (β). Precízebben megfogalmazva, az átmeneti ráták a tartományok szélére lokalizált δ -függvények α , ill. β amplitúdóval úgy, hogy $\alpha > \beta$. Szélsőséges esetben ($\alpha \rightarrow \infty$, $\beta \rightarrow 0$), amikor a részecske eléri az egyik tartomány jobb szélét, azonnal átkerül a másik potenciálfelület következő félperiódusára, ahonnan már ezen a helyen többé nem térhet vissza, és el kell diffundálnia az új tartomány jobb széléig, jól szemléltetve az egyenirányítás mechanizmusát. A részletes egyensúly feltételéből következik, hogy minden egyes átmenethez $k_{\text{B}}T \ln(\alpha/\beta)$ szabadenergia-változás tartozik, tehát jobbra haladva a befektetett energia ($L = 2l$) periódusonként $\Delta G = 2k_{\text{B}}T \ln(\alpha/\beta)$ lesz. Most már csak a részecske J áramát kell



1.8. ábra. (a) Információs racsni, amelyben egy Brown részecske diffundál a bevonalkázatlan tartományokon a potenciál mindkét állapotában, és a két állapot között kémiai átmenet viheti át a rendszert, amikor a részecske valamelyik tartomány határához ér. (b) A rendszer átjátszható egy lépcsőpotenciálra, melynek fokai $\Delta G/(2l)$ magasak, és szélein kinetikus gátak találhatók.

meghatároznunk, amelyből a $v = 2lJ$ átlagsebessége is egyből adódik (szintén periódusonként 1-re normált valószínűsége sűrűséget feltételezve). A stacionárius állapotban jelöljük a részecske valószínűsége sűrűségét ρ_- -szal a diffúziós tartományok bal szélén, és ρ_+ -szal a jobb szélén. Mivel a tartományok belsejében a potenciál vízszintes, ott a valószínűsége sűrűség-függvény lineárisan változik, amelyhez egy konstans

$$J = D(\rho_- - \rho_+)/l \quad (1.25)$$

áram társul. A kontinuitás miatt ennek az áramnak meg kell egyeznie a határokon a potenciál két állapota között folyó árammal:

$$J = \alpha\rho_+ - \beta\rho_- . \quad (1.26)$$

A valószínűsége sűrűség-függvény normálása miatt:

$$2l \frac{\rho_- + \rho_+}{2} = 1 . \quad (1.27)$$

Ezen három egyenletből ρ_- és ρ_+ eliminálásával kapjuk, hogy

$$J = \frac{D}{l} \frac{\alpha - \beta}{2D + (\alpha + \beta)l} < \frac{D}{l^2} \frac{\alpha - \beta}{\alpha + \beta} = \frac{D}{l^2} \tanh\left(\frac{\Delta G}{4k_B T}\right) . \quad (1.28)$$

Mivel a bemenő teljesítmény $\mathcal{P}_{\text{in}} = J\Delta G$, a kimenőt pedig $\gamma(2lJ)^2$ -ként definiáltuk, az általánosított hatásfokra

$$\eta_{\text{gen}} = \frac{\gamma(2lJ)^2}{J\Delta G} < \frac{\tanh[\Delta G/(4k_{\text{B}}T)]}{\Delta G/(4k_{\text{B}}T)} \quad (1.29)$$

adódik. A jobb oldali kifejezés mindig kisebb, mint 1, nullához tart, ahogy $\Delta G \rightarrow \infty$, és 1-hez közelít, ahogy $\Delta G \rightarrow 0$.

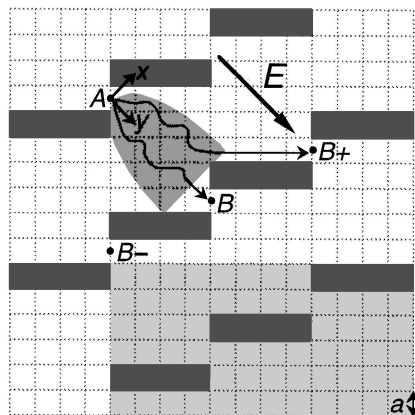
Érdekes módon, optimális körülmények között (amikor a hatásfok 1 közelébe esik), a $v = 2lJ$ átlagsebesség $\Delta G/(2l\gamma)$ közelében jár, vagyis a részecske úgy viselkedik, mintha egy állandó $\Delta G/(2l)$ erő húzná. Ez úgy szemléltethető, hogy ha a rendszert előbb átranzformáljuk egy lépcsőpotenciálra, melynek l hosszúságú fokai $\Delta G/(2l)$ magasak, és szélein kinetikus gátak találhatók, ahogy az 1.8.(b) ábra mutatja. Ha az átmeneti ráták elég nagyok ($\alpha + \beta \gg 2D/l$), a kinetikus gátak elhanyagolhatók, így a Brown részecske gyakorlatilag egy monoton lépcsőpotenciálon mozog, melynek átlagos meredeksége $\Delta G/(2l)$. Ha még az is teljesül, hogy $\Delta G \ll k_{\text{B}}T$, akkor a lépcsőfokok effektíve összerosódnak, és a részecske úgy mozog, mintha egy lineáris potenciálon csúszna le $\Delta G/(2l\gamma)$ átlagsebességgel.

Tehát valóban jó hatásfokkal képes a felvett energiát felhasználni ez a rendszer a részecske mozgatására. Terhelőerőt rákapcsolva viszont a diffúziót úgy visszafognánk, hogy jelentősen lelassulna a részecske mozgása és átrendeződnének a valószínűségi-részek. Ezért az így mért hagyományos hatásfok már nem is a vizsgált rendszert jellemezné, azt a mérés túlságosan megzavarná.

1.5. Részecskék szeparálása [T7, T8]

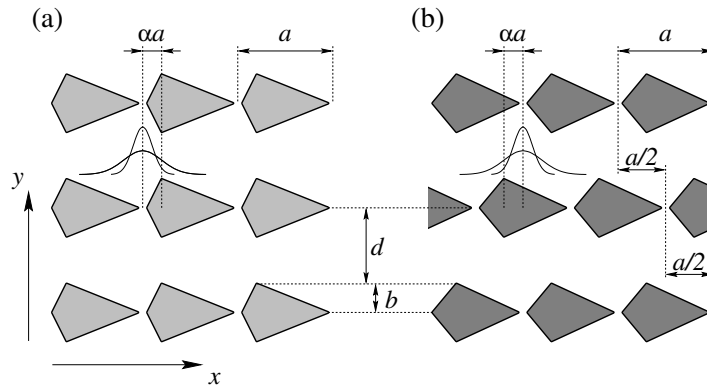
A Brown racsok tanulmányozásának kezdete óta intenzív próbálkozás folyik gyakorlati alkalmazásukra. Ezen belül is elsősorban részecskék (molekulák, sejtek, stb.) szétválogatására, hiszen a különböző típusú részecskék átlagos sebessége, de még a haladási iránya is, nagy mértékben függ fizikai paramétereiktől (mint pl. töltés, méret, diffúziós állandó). A legelső működő kísérleti berendezés egy aszimmetrikus elektrodarendszer volt, amellyel kolloid részecskéket lehetett egyirányba hajtani a feszültség ki-be kapcsolásával [38].

Egy figyelemreméltó eljárást dolgozott ki egymástól függetlenül Duke és Austin [39], valamint Ertas [40] azonos elektroforetikus mobilitású, de különböző diffúziós állandójú részecskék szeparálására. Mivel a különböző méretű DNS molekulák is



1.9. ábra. Az eredeti geometriai elrendezés elektroforetikusan (átlós irányban) hajtott részecskék szeparálására (sötétszürke) téglalap alapú akadályoszlopok rendszerében. Az A hézagon átjutott részecskék nagy valószínűséggel jutnak tovább a B hézagig, de a diffúziós állandójuktól függően számottevő valószínűséggel juthatnak a $B+$ hézaghoz. Ez adja a hajtás irányára merőleges szeparálás alapelvét. (Forrás: [39])

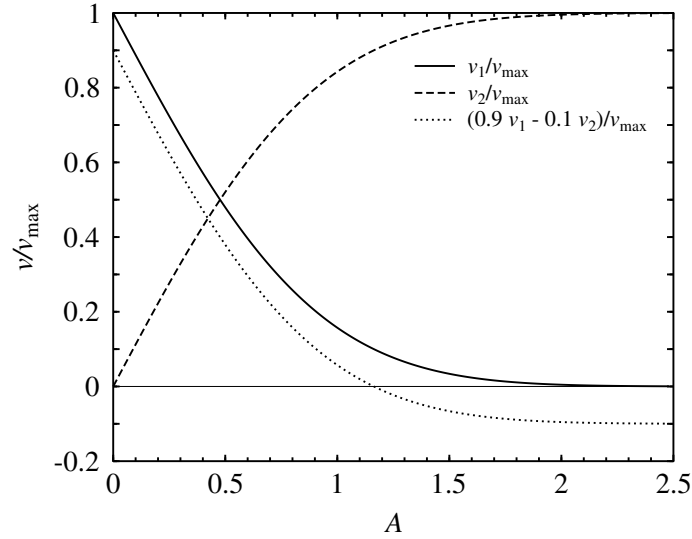
ezekkel a tulajdonságokkal rendelkeznek, komoly biotechnológiai alkalmazási lehetőségek rejlenek ebben a módszerben. Működési elve a [39] cikkből vett 1.9. ábra segítségével könnyen megérthető. Az ábra felülnézetből mutatja egy kétdimenziós rácsba rendezett, μm -es skálájú, téglalap alapú (az ábra síkjára merőlegesen álló) oszlopok rendszerét. Az oszlopok közötti térrészt folyadék tölti ki, amelyben a szeparálandó részecskék találhatók. Ha egy külső homogén E elektromos térrel (ami az ábrán átlós irányban jobbra lefelé mutat) elektroforetikusan hajtjuk a részecskéket, akkor azok időről időre beleütköznek az akadályoszlopokba, és csak a köztük lévő kis hézagokon keresztül juthatnak tovább. Kövessük nyomon azt a részecskét, amely épp most került a két akadály közötti A pontba. A tér hatására tovább fog migrálni átlósan, ugyanakkor el is kezd diffundálni az erre merőleges irányban (ahogy a szürke parabola jelzi). A következő oszlopsort elérve, nagy valószínűséggel fog átjutni az éppen szemben lévő B hézagon. Számottevő valószínűsége lesz annak is, hogy kicsit balra az oszlop sarkán túldiffundálva végül a $B+$ hézagnál kössön ki. Az oszlopoknak az elektromos térre merőleges irányban tapasztalható aszimmetriája miatt viszont, annak a valószínűsége, hogy a részecske a $B-$ hézaghoz jusson, már elenyészően kicsi. Ez a viselkedés nagyban hasonlít a váltakozó racsnikra abban, hogy szabad diffúzió és aszimmetrikus csapdázódás felváltva követik egymást. A végeredmény az, hogy sok akadálysoron átjutva, a részecskék átlagosan egy, a térre merőleges drift sebességre tesznek szert.



1.10. ábra. Mindkét elrendezés y irányú szimmetriája miatt a részecskék x irányú drift sebessége, ill. szeparálása független az y irányú hajtóerő előjelétől. Így alternáló hajtóerővel már néhány akadálysor alkalmazásával is hosszan végezhető a szeparáció.

Mivel ez a drift sebesség nagy mértékben függ a részecskék diffúziós állandójától, felhasználható szeparálásra. Csak annyit kell tenni, hogy a bal felső sarokba folyamatosan injektáljuk a részecskék keverékét, jobb oldalon alul pedig különböző pontokban különböző típusú részecskéket nyerhetünk ki.

Nagy előnye ennek az eljárásnak, hogy a geometriája tetszés szerint alakítható ki, az egyszer megépített akadályrendszer újra és újra felhasználható, a szeparálás pedig automatizálható. Így alkalmas lehet arra, hogy úgynevezett „lab-on-chip” (sok feladatot kis helyen integráló) eszközökben kerüljön felhasználásra. Egy hátránya, hogy jó felbontás eléréséhez, nagyon sok oszlopsorra van szükség. Míg az elektromos térre merőlegesen már néhány mm is elég lehet, addig a tér irányában 10 cm-t meghaladó úthosszra is szükség adódhat. Ennek a problémának az áthidalására találtuk ki az 1.10. ábrán látható geometriá(ka)t [T7]. Az egyszerűség kedvéért az elektromos teret y irányúnak választottuk, így a szeparáció szempontjából lényeges drift az x irányban történik. Az alapvető újítás az, hogy míg a térre merőleges x irányban megőrizzzük az akadályok aszimmetriáját (ez elengedhetetlen a szeparáláshoz), addig a tér irányában szimmetrikussá tesszük őket. Így téglalap helyett deltoid alapú akadályaink lesznek. Ennek az a következménye, hogy akár a $+y$, akár a $-y$ irányba hajtjuk a részecskéket, az x irányban ugyanolyan lesz a drift mozgásuk. Ez szöges ellentétben áll az eredeti geometriával, ahol a hajtás megfordításával a drift is megfordult. Mivel tehát az új geometriában a szeparáció az elektromos tér előjelétől független, több száz vagy ezer akadálysoron való áthajtás helyett elég a részecskéket néhány akadálysoron oda-vissza



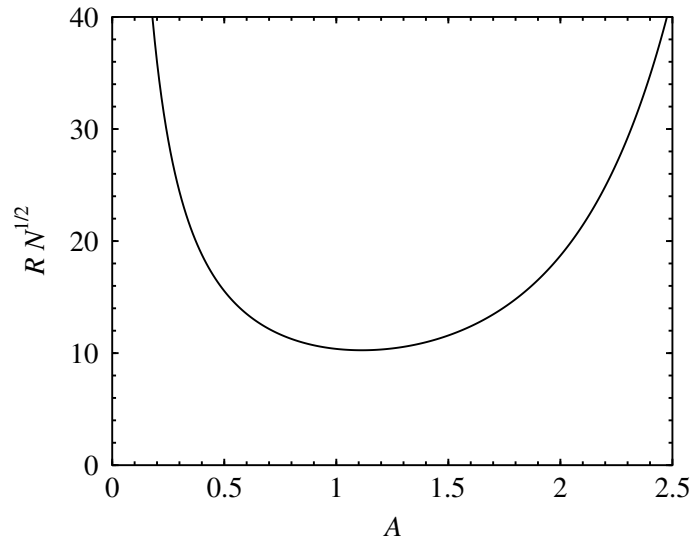
1.11. ábra. A részecskék x irányú drift sebessége a dimenziótlan A paraméter függvényében az 1.10. ábra (a) elrendezése (folytonos vonal), (b) elrendezése (szaggatott vonal), valamint az 1.13. ábrának megfelelő 90%-10%-os kombinált elrendezés (pontozott vonal) esetén.

hajtani, addig amíg a kívánt szeparációt el nem érjük. Így most már a tér irányában is mm alatti lehet a berendezés mérete, igazán megfelelő egy „lab-on-chip” eszközbe való beépítésre.

Az 1.10. ábrán látható kétféle elrendezés között az a különbség, hogy míg az elsőben a nagy diffúziós állandójú részecskék (amelyeket a szélesebb Gauss-görbe reprezentál) fognak gyorsabban jobbra driftelni, addig a másodikban épp fordítva. Hogy meghatározhassuk a részecskék drift sebességét, vizsgáljuk meg részletesen a μ elektroforetikus mobilitású és D diffúziós állandójú részecskék mozgását. Tegyük fel, hogy egy hézagon való átjutás után $v = \mu E$ sebességgel egyenletesen haladnak az y irányban, és közben (a belógó akadályok figyelmen kívül hagyásával) diffundálnak az x irányban. Ekkor a hézagtól y távolság megtétele után a részecskék x irányú megtalálási valószínűsége

$$\varrho(x|y) = \sqrt{\frac{\mu E}{4\pi D y}} \exp\left(-\frac{\mu E x^2}{4 D y}\right). \quad (1.30)$$

d távolságot megtéve eléri a következő akadálysor szélét, és csapdába esnek valamelyik hézaghoz vezető „tölcsérben”. Az egyszerűség kedvéért csak a két legrelevánsabb tölcsért vesszük figyelembe, és P^- -szal, ill. $P^+ = 1 - P^-$ -szal jelöljük, hogy milyen



1.12. ábra. Az R felbontási paraméter (\sqrt{N} -nel beszorozva) a dimenziótlan A paraméter függvényében.

valószínűséggel kerülnek e kettő közül a bal oldaliba, ill. a jobb oldaliba a részecskék.

Bevezetve a

$$v_{\max} = \frac{a}{2} \frac{\mu E}{d+b} \quad \text{és} \quad A = \frac{\alpha a}{2 \sqrt{\frac{dD}{\mu E}}} \quad (1.31)$$

jelöléseket, a valószínűsége-sűrűség-függvény integrálásából adódik, hogy

$$P_1^+ = P_2^- = \frac{1}{2} \operatorname{erfc}(A) . \quad (1.32)$$

Az 1-es és 2-es alsó indexek itt, és a későbbiekben is, arra utalnak, hogy az 1.10. ábra (a) vagy (b) elrendezéséről van-e szó. Ebből végül a drift sebességre kapjuk, hogy

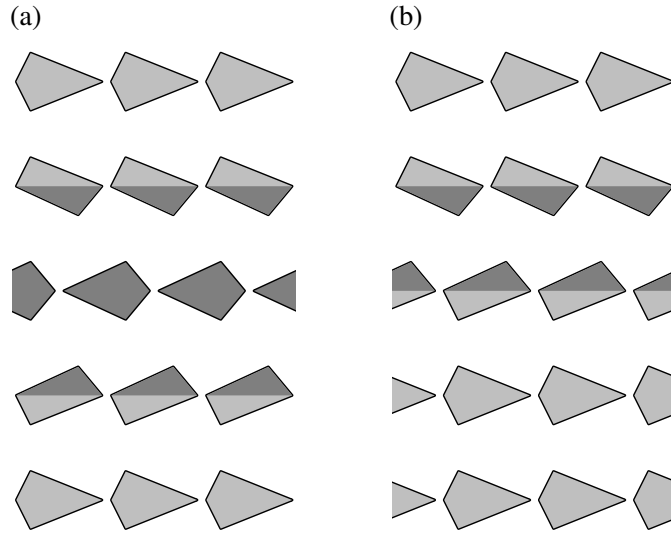
$$v_1 = a \frac{\mu E}{d+b} P_1^+ = \operatorname{erfc}(A) v_{\max} , \quad (1.33)$$

illetve

$$v_2 = a \frac{\mu E}{d+b} \left(\frac{1}{2} - P_2^- \right) = [1 - \operatorname{erfc}(A)] v_{\max} . \quad (1.34)$$

Ezeket a sebességeket tünteti fel az 1.11. ábra a dimenziótlan A paraméter függvényében.

Az eszközünket kétféle módon lehet működtetni. Az egyikben a részecskéket a bal oldalon egy keskeny sávban helyezzük be, ahonnan aztán jobbra driftelnek. Mivel a drift sebességük függ a diffúziós állandójuktól, különböző sebességgel haladó sávokba



1.13. ábra. Illusztráció, hogy különböző irányú sorok az 1.10. ábra (a) és (b) geometriai elrendezéséből hogyan kombinálhatók össze.

fognak rendeződni. A sávok persze folyamatosan szélesednek is, de mivel csak az idő négyzetgyökével arányos módon, a szeparáció felbontóképessége idővel egyre javul. A felbontóképesség jellemzésére vezessük be az R paramétert a következő egyenlet segítségével:

$$|x(D, N) - x(D(1 + R), N)| = 4\sigma(D, N) , \quad (1.35)$$

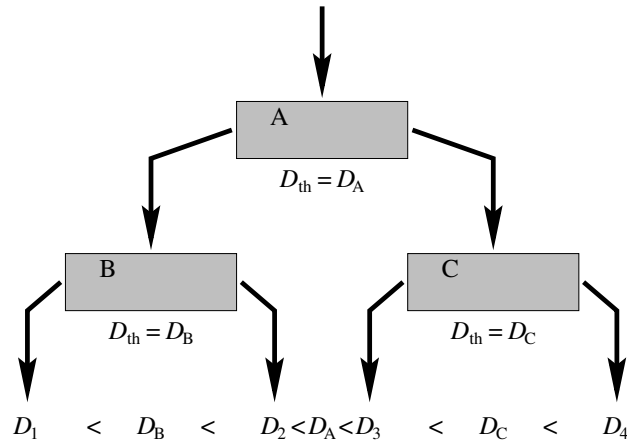
ahol $x(D, N)$ jelöli a D diffúziós állandójú részecskék x irányba megtett átlagos távolságát $N = \mu Et / (d + b)$ akadálysoron való áthaladás után, és $\sigma(D, N)$ a szórását. Ez az egyenlet azt fejezi ki, hogy kétfajta részecske R relatív diffúziós állandó különbséggel akkor tekinthető szeparáltnak, ha a várható távolságuk legalább kétszerese a sávjaik szélességének (vagy 4-szerese a szórásuknak). Tehát kisebb R jobb felbontást jelent. Mivel minden egyes akadálysoron való áthaladás egy két-kimenetelű véletlen esemény, $x(D, N)$ -et is és $\sigma(D, N)$ -et is könnyen kiszámolhatjuk:

$$x_i(D, N) = N(\text{const.} + P_i^+ a) , \quad (1.36)$$

$$\sigma_i^2(D, N) = NP_i^+(1 - P_i^+)a^2 , \quad (1.37)$$

majd az (1.35) egyenletet kis R -ekre sorbafejtve kapjuk, hogy

$$R = \frac{8}{\sqrt{N}} \frac{\sqrt{P_i^+(1 - P_i^+)}}{\left| \frac{\partial P_i^+}{\partial A} \right| A} . \quad (1.38)$$



1.14. ábra. Illusztrációja több szeparátor hierarchikus elrendezésének sokféle részecske folytonos szétválogatására. (Az egyes szeparátorok küszöb diffúziós állandójára teljesül, hogy $D_B < D_A < D_C$).

Az alsó index ($i = 1, 2$) továbbra is a két elrendezés megkülönböztetésére szolgál. Az (1.32) egyenlet behelyettesítése után végül az adódik, hogy

$$R = 4 \sqrt{\frac{\pi}{N}} \frac{\exp(A^2)}{A} \sqrt{\operatorname{erfc}(A) \operatorname{erfc}(-A)}, \quad (1.39)$$

azonosan mindkét elrendezésre. Ebből is látszik, hogy a felbontás az idővel (az akadálysorok N számával) négyzetgyökösen javul. Az 1.12. ábrán jelenítettük meg $RN^{1/2}$ -et a dimenziótlan A paraméter függvényében. Ennek elég széles minimuma van $A \approx 1.1$ körül, ezért tervezéskor a rendszer paramétereit úgy érdemes megválasztani, hogy az A értéke a szeparálandó részecskékre ebbe a tartományba essen.

Az eszköz másik lehetséges használati módjának megvilágításához kombináljuk össze az 1.11. ábrán felvázolt kétféle elrendezést ($i = 1, 2$) oly módon, hogy a másodikból beteszünk néhány sort az elsőbe fordított irányban, ahogy az 1.13. ábra mutatja. Ennek az lesz a következménye, hogy a nagy diffúziós állandójú (kis A -val jellemzett) részecskék továbbra is jobbra fognak driftelni, a kis diffúziós állandójúak (nagy A -júak) viszont balra. Ezt szemlélteti az 1.12. ábra pontozott görbéje, amely a másik kettő 0.9-es, ill. -0.1 -es együtthatójú lineárkombinációja. Jelöljük D_{th} -val a diffúziós állandónak azt a küszöbértékét, amelyre éppen nulla drift sebesség adódik. Ha most két olyan típusú részecskénk van, amelyek ellentétes irányba driftelnek, akkor elég ha a berendezés közepére folyamatosan injektáljuk a szétválasztandó részecskéket, a jobb és bal szélén pedig folyamatosan gyűjtjük az egyik, ill. másik típusút. Több, mint

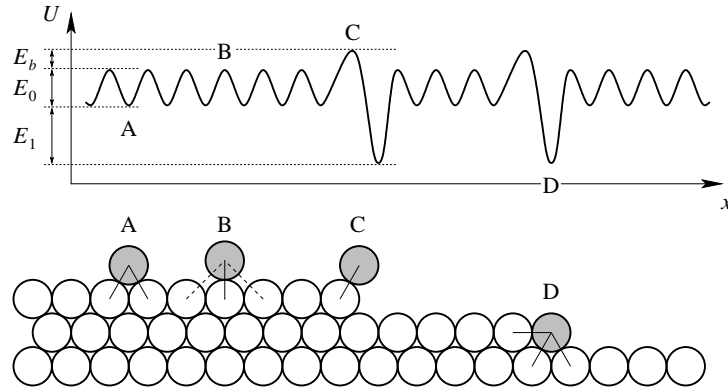
kétféle részecske szétválogatására, az 1.14. ábrának megfelelően több ilyen eszköz is használható hierarchikusan egymás után kapcsolva.

Bár a DNS-re vonatkozó becsléseink szerint [T7] ez a technika jobb felbontást eredményez, mint a hagyományos gél elektroforézis, egy nagyságrenddel elmarad a legmodernebb kapilláris elektroforézis mögött. Ennek ellenére kis mérete, folyamatos üzemeltethetősége, egyszerű automatizálhatósága miatt potenciális alternatívát nyújt „lab-on-chip” eszközökben történő szeparálásra. Austin és társai [41] kísérletileg is demonstrálták az eredeti geometriai elrendezés működőképességét. A kísérletekből, és a későbbi elméleti számításokból [42, 43] kiderült, hogy vezető folyadékközeg és szigetelő akadályok esetén az elektromos tér inhomogénné válik, az erővonalak az akadályokat elkerülve besűrűsödnek a hézagokban, és pontrészcsek hajtása esetén (a tér divergenciamentességének köszönhetően) teljesen kioltják az x irányú drift sebességet. Szerencsére ha a részecskék mérete összemérhető a hézagok szélességével (ami eleve egy fontos követelmény jó felbontás eléréséhez) az erővonalak besűrűsödése elveszti jelentőségét, és a szeparálás a fenti kvantitatív becsléssel összhangban történik. Az általunk javasolt új geometriát jelenleg a Szegedi Biológiai Központban Ormos Pál csoportjával együttműködve próbáljuk kísérletileg megvalósítani.

Egy érdekes elméleti következménye az új elrendezésünknek, hogy benne az y irányú hajtás és az x irányú drift áram nemlineáris módon csatolódnak egymáshoz [T8]. Pontosabban, mivel a drift független az elektromos tér előjelétől, ennek egy páros függvénye kell, hogy legyen. Ezért a lineáris csatolási állandó szükségszerűen zérus, és így az Onsager-féle reciprocitás törvénye is érvényét veszti: egy x irányú hajtás semmiféle drift áramot nem idéz elő az y irányban.

1.6. Szupravezető vortexek eltávolítása [T9, T10, T11]

Ahogy az előbbiekből láttuk, a Brown racsnik alkalmazása részecskék szeparálására elsősorban biofizikai szempontból jelentős. Számos alkalmazás született azonban a szilárdtestfizikában is. Ezeket a kutatásokat joggal sorolhatjuk a biológia által motivált fizikához, hiszen az alapelveken túl már nincs más kapcsolatuk a biológiával. Talán a legelső ilyen alkalmazás volt az a fémek és félvezetők felületének simítására szolgáló eljárás, amit Barabási Lászlóval (aki akkor még aktívan foglalkozott felületek durvulásával) dolgoztunk ki a PhD tanulmányaim legvégén [44]. Ennek lényege, hogy ha egy kristálysíkkal majdnem párhuzamos felületen atomok diffundálnak, akkor

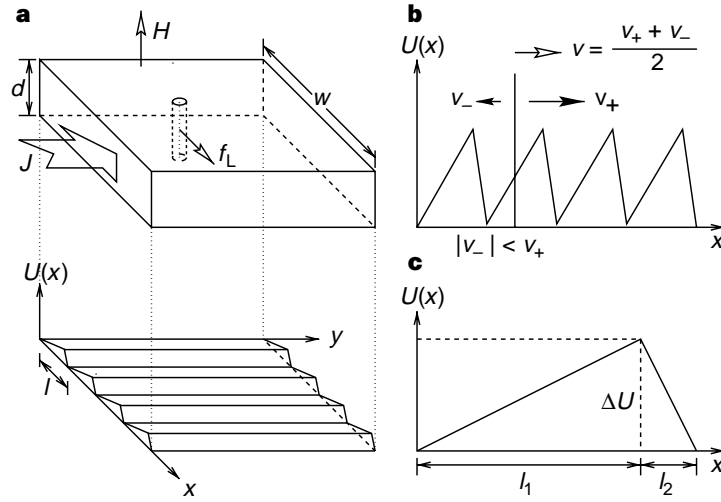


1.15. ábra. Egy enyhén lépcsőzetes felszínen diffundáló atomok (alsó panel) egy aszimmetrikus U potenciált éreznek (felső panel) a lépcsők szélén található Schwoebel gát (C pozíció), és a lépcsőfokok alján található mélyebb energiavölgy (D) miatt.

a felület enyhe lépcsőzetessége miatt az atomok egy aszimmetrikus U potenciált érzékelnek (lásd az 1.15. ábrán). Ez a lépcsők szélén található Schwoebel gát (C pozíció), valamint a lépcsőfokok alján elhelyezkedő mélyebb energiavölgy (D pozíció) aszimmetriájának a következménye. Ha most a felülettel párhuzamos és a lépcsőfokokra merőleges (az ábrán x irányú) váltakozó elektromos teret kapcsolunk a rendszerre, akkor az elektromigráció jelensége következtében a felületen diffundáló atomok a térrel párhuzamos hajtóerőt éreznek. Ez pedig nem más, mint egy billegő racsní, ami azt eredményezi, hogy az atomok egy olyan átlagsebességre tesznek szert, ami a lépcsőn lefelé mutat. Ha tehát kezdetben egy enyhén hepehupás felszínünk van, akkor a racsní effektus miatt a dombok teteje felől az atomok elkezdenek a völgyek alja felé áramlani, egyre simítva a felszínt. Ezt a jelenséget Pablo és társainak sikerült először kísérletileg kimutatniuk arany felszínén [45, 46].

Néhány évvel később Barabási Lászlóval a racsníknak egy másik lehetséges alkalmazásán kezdtünk dolgozni, de ekkor már együttműködve Jankó Boldizsárral, aki a szupravezetés elméletében volt járatos. Közös kidolgoztunk egy olyan eljárást, amely segítségével szupravezető vortexeket lehet eltávolítani egy szupravezető anyag belsejéből [T9, T11]. Az eljárást később szabadalmaztattuk [T10], a legutóbbi években pedig néhány kutatócsoportnak sikerült a jelenséget kísérletileg is előidézni [47, 48, 49, 50].

A szupravezető eszközök működésében komoly akadályt jelentenek a bezárt mágneses fluxusvonalak, más néven vortexek, mivel energiát disszipálnak és zajt generálnak [51, 52, 53, 54]. Már olyan kis mágneses terek is, mint a Földé, képesek



1.16. ábra. (a) Szupravezető film z irányú \mathbf{H} mágneses térben. Egy y irányban folyó \mathbf{J} sűrűségű elektromos áram egy x irányú \mathbf{f}_L Lorentz erőt fejt ki a szupravezető vortexekre. Hogy a racsni mechanizmussal mozgathassuk a vortexeket, (b) egy x irányban periodikus de aszimmetrikus fűrészalakú $U(x)$ potenciált hozunk létre, amelynek paramétereit a (c) panel tartalmazza.

vortexeket indukálni. A vortexek hatásának csökkentésére számos módszert találtak ki. Szennyezésekkel vagy rácshibákkal (közös néven rögzítő centrumokkal, „pinning center”-ekkel) például lerögzíthetők a vortexek, nagymértékben csökkentve a mozgásukból adódó energiadisszipációt. A legjobb megoldás azonban az volna, ha el lehetne távolítani a vortexeket a szupravezető belsejéből. Az erre kidolgozott módszerünket ismertetem a következőkben.

Ha az 1.16.(a) ábrának megfelelően egy másodfajú szupravezető filmet, amelyben y irányban \mathbf{J} sűrűségű elektromos áram folyik, egy z irányú \mathbf{H} külső mágneses térbe helyezzük, akkor abban a vortexekre ható, a térre és az áramra is merőleges x irányú Lorentz erő fog ébredni:

$$\mathbf{f}_L = (\mathbf{J} \times \hat{\mathbf{h}})\Phi_0 d/c, \quad (1.40)$$

ahol $\hat{\mathbf{h}}$ a mágneses tér irányába mutató egységvektor, c a vákuumbeli fénysebesség, $\Phi_0 = 2.07 \times 10^{-7} \text{ G cm}^2$ fluxuskvantum és d a vortex hossza (ami azonos a film vastagságával). Ha ezenkívül még a vortexek számára létrehozunk egy, az x irányban periodikus de aszimmetrikus, fűrészalakú $U(x)$ potenciált az 1.16 ábrának megfelelően (pl. a film vastagságának enyhe modulálásával vagy gyenge rögzítő centrumok létrehozásával), akkor a vortexek mozgását a következő sebességgel jellemezhetjük:

$$\mathbf{v} = (\mathbf{f}_L + \mathbf{f}_U + \mathbf{f}_{vv})/\eta, \quad (1.41)$$

ahol $\mathbf{f}_U = -(\mathrm{d}U/\mathrm{d}\mathbf{x})\hat{\mathbf{x}}$ az $U(x)$ potenciál által generált erő, \mathbf{f}_{vv} a taszító vortex-vortex kölcsönhatás (amelynek az alakját itt nem adom meg, a számolások során alacsony vortexsűrűséget feltételezve amúgy is elhanyagolható), valamint η a vortexek súrlódási együtthatója. Alternáló \mathbf{J} áramsűrűség alkalmazásával ismét egy billegő racsnit kapunk. Hosszú periódusidő esetén (és a vortex-vortex kölcsönhatás elhanyagolásával) a vortexek átlagsebessége könnyen kiszámolható:

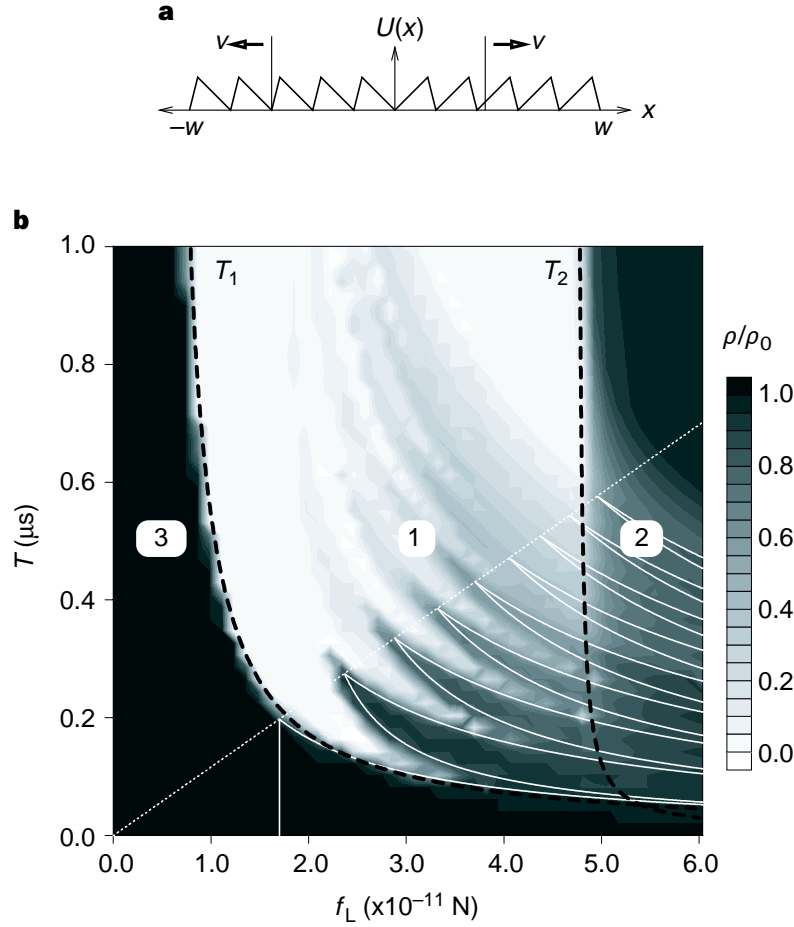
$$v = \begin{cases} 0 & \text{ha } f_L < f_1 \\ \frac{1}{2\eta} \frac{(f_L + f_2)(f_L - f_1)}{f_L + f_2 - f_1} & \text{ha } f_1 < f_L < f_2 \\ \frac{1}{\eta} \frac{f_1 f_2 (f_2 - f_1)}{f_L^2 - (f_2 - f_1)^2} & \text{ha } f_2 < f_L \end{cases} \quad (1.42)$$

ahol $f_1 = \Delta U/l_1$ és $f_2 = \Delta U/l_2$ az $U(x)$ potenciál fűrészfogainak meredeksége az 1.16.(c) ábra paramétereire alapján, $f_L = |\mathbf{f}_L| = J\Phi_0 d/c$ pedig a Lorentz erő abszolútértéke J amplitúdójú (dichotomikus) váltóáram esetén.

Felmerül a kérdés, hogy egyáltalán mire jó a racsni effektussal történő mozgatás. Adott irányba egyszerűen a Lorentz erővel is tudnánk mozgatni a vortexeket. Ez utóbbinak viszont nagy hátránya, hogy a rendszer egyik szélén kilépő vortexek helyére a másik szélén újak lépnek be. A racsni effektus nagy előnye viszont abban van, hogy a mozgatás irányát a geometria szabja meg, a hajtáshoz pedig elégséges egy nulla átlagértékű alternáló erő. Tehát hogyha az 1.17.(a) ábrának megfelelően úgy fordítjuk a fűrészfogakat, hogy azok a rendszer közepétől kifelé vezessék a vortexeket, akkor gyakorlatilag az összes vortextól megszabadulhatunk, hiszen az anyag belsejében maguktól vortexek nem szülehetnek. (Ez hasonlít ahhoz, ahogy az alfejezet elején ismertetett felületsimítási eljárásban a diffundáló atomokat mindig a dombokról lefelé vitte a racsni effektus.)

Az f_L Lorentz erő és a T periódusidő különböző értékeire numerikus szimulációkat végeztünk, és ahogy az 1.17.(b) ábra is mutatja, a paramétertartomány egy jól definiált részén a vortexsűrűség valóban nulla közelébe esik le, ami a munkánk legfőbb eredményének tekinthető. A szimulációkban a vortex-vortex kölcsönhatás mellett figyelembe vettük még a vékony filmekre jellemző (a Meissner áramok miatt kialakuló) geometriai potenciált, amelyet a következő erőkkel szokás megadni [55]:

$$\begin{cases} f_{\mathrm{in}}(x) = -\frac{H\phi_0}{2\pi} x/\sqrt{w^2 - x^2} & \text{ha } -w + d/2 < x < w - d/2 \\ f_{\mathrm{edge}} = 2\epsilon_0 - \frac{H\phi_0}{2\pi} \sqrt{4w/d - 1} & \text{ha } w > x > w - d/2 \\ -f_{\mathrm{edge}} & \text{ha } -w < x < -w + d/2 \end{cases} \quad (1.43)$$



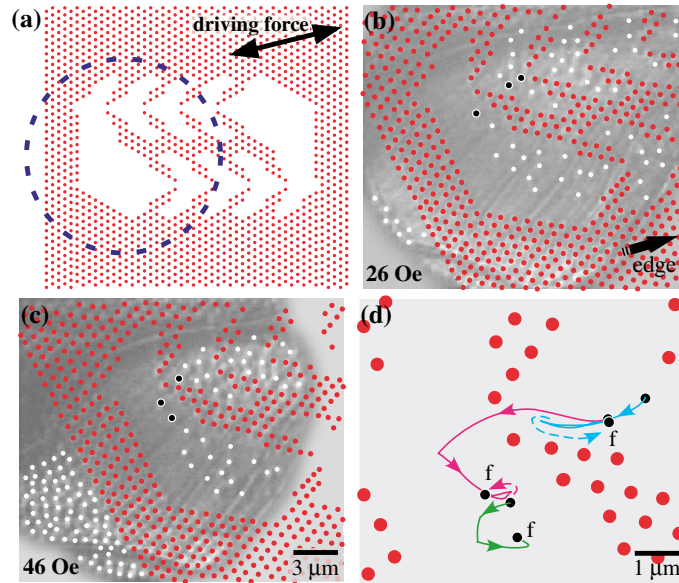
1.17. ábra. (a) Két egymással szembe fordított racsni potenciál segítségével a vortexek középről kifelé vezethetők. (c) Numerikus szimulációk eredményei a vortexek ρ átlagsűrűségéről az f_L Lorentz erő és a T periódusidő függvényében hosszú idő elteltével. A szimulációk paraméterei: $5 + 5$ fűrészfog balra+jobbra, $l_1 = 20\lambda$ és $l_2 = 5\lambda$, ahol $\lambda \approx 45$ nm a behatolási mélység Nb esetén, $\Delta U = \varepsilon_0 \Delta h$, ahol $\Delta h = l_2$ a fűrészfogmintázat magassága és $\varepsilon_0 \approx 1.7 \times 10^{-11}$ N, $\eta = \eta_0 d$, ahol $\eta_0 \approx 7 \times 10^{-6}$ Ns/m a vortexek hosszegységre jutó viszkozitása és $d = 200$ nm a film vastagsága, valamint $H = 1$ G. Hogy kezelhessük a vortexek behatolását, egy konstans ρ_0 vortexsűrűséget írtunk elő határfeltételként. Jól látszik, hogy a paramétertartomány középső részén a vortexek csaknem teljesen kiürülnek az anyag belsejéből.

ahol $-w$ és w jelöli a film két szélét x irányban.

Az (f_L, T) fázisdiagrammot három részre oszthatjuk a T_1 és T_2 görbékkel. A

$$T_1 = 2\eta \frac{l_1}{f_L - [f_1 + f_{in}(-w + l_2)]} \quad (1.44)$$

fázishatár ($d/2 < l_2$ esetén) annak az időnek a kétszeresét adja meg, ami ahhoz kell,



1.18. ábra. Togawa és társai kísérleti eredményei vortexek mozgására a racsní effektussal. (a) Szabad vortexek csak a középső, nagy, racsniszerű oldalfallal határolt, fehér tartományban mozoghatnak mert nem juthatnak be az erősen lerögzített vortexek sűrű rácsába. (b)-(c) Szabad vortexek (fehér, ill. fehér peremű pöttyök) elmozdulása balra lefelé történő hajtás következtében. (d) Néhány kiemelt vortex trajektóriája. Alternáló hajtás esetén a szabad vortexek körbe-körbe haladnak az óramutató járásával ellenkező irányban. (Forrás: [50])

hogyan a legszélső fűrészfog l_1 -es oldalán fel tudjon jutni a vortex, azaz képes legyen elhagyni a rendszert. A

$$T_2 = 2\eta \left(\frac{d/2}{f_L - [f_2 + f_{\text{edge}}]} + \frac{l_2 - d/2}{f_L - [f_2 - f_{\text{in}}(-w + d/2)]} \right) \quad (1.45)$$

fázishatár pedig annak az időnek a kétszerese, ami ahhoz szükséges, hogy kívülről a legszélső fűrészfog l_2 -es oldalán feljuthasson egy vortex, azaz bejuthasson a rendszerbe. $T < T_1$ esetén tehát a vortexek nem tudnak kijutni, $T_2 < T$ esetén viszont kívülről képesek behatolni. Ezért a vortexek teljes kiürítését a $T_1 < T < T_2$ tartományban várjuk, ahogy ezt a szimulációk is alátámasztják. Még ebben a tartományban is előfordulhatnak azonban periodikus pályák (lásd az ujjakat az ábrán, valamint ezek analitikusan megbecsült széleit fehér vonalakkal), amelyekben bennragadnak a vortexek.

A munkánk nyomán (ahogy korábban már említettem) vortexeknek a racsní effektussal való mozgására több új kísérlet is született. Egyik ilyen [50] látható az 1.18.

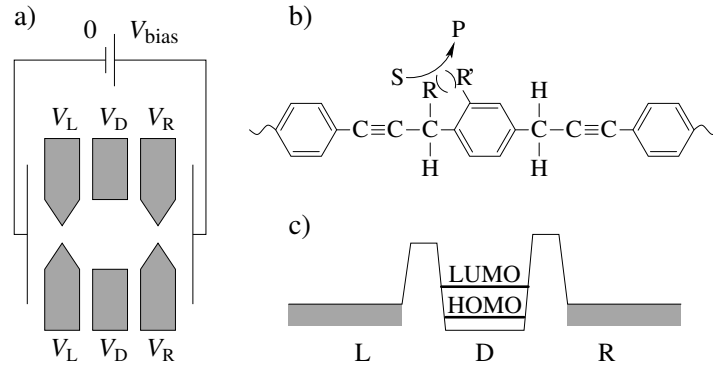
ábrán, ahol erős rögzítő centrumokkal úgy rögzítettek le rengeteg vortexet, hogy szabad vortexek már csak az (a) ábra fehérrel kihagyott részén mozoghattak. Ezt a részt olyan alakúra készítették, hogy váltakozó erő hatására a szabad vortexek körbe-körbe haladjanak, az óramutató járásával ellenkező irányban.

1.7. Molekuláris elektronpumpa [T12]

Végül felvázolok egy elvi lehetőséget a racsni effektus nano- vagy molekuláris elektronikai alkalmazására. A 90-es években több kutatócsoportnak sikerült félvezető kvantumpötty segítségével megvalósítania az úgynevezett adiabatikus elektronpumpát [56, 57, 58], amelynek lényege, hogy a pumpa (kvantumpötty) paramétereinek lassú ciklikus változtatásával elektronok egyesével pumpálhatók egy alacsonyabb elektrokémiai potenciálú tartályból egy magasabb felé [59]. Ez a bal- és jobb oldali kapuk megfelelő ütemben történő nyitásával és zárásával (a kapufeszültségek szabályozásán keresztül), valamint a kvantumpötty feszültségének modulálásával érhető el. Az elrendezés geometriáját az 1.19.(a) ábra illusztrálja, ahol a szürke elektródák által közrefogott tartomány maga a kvantumpötty, amelyben egész számú (N) erősen lokalizált elektron foglalhat helyet, jól elkülönült energiaszinteken. Ez a tulajdonság definiálja egyébként a kvantumpöttyöket, és épp emiatt szokták őket „mesterséges atomoknak” is nevezni. A kvantumpötty energiája a V_D feszültséggel szabályozható (ami egyszerűen az összes energiaszintet együtt tolja fel vagy le), míg az elektronok a bal- és jobb oldali tartállyal a V_L és V_R kapufeszültségű elektródákon lévő keskeny hézagokon keresztül állnak kapcsolatban. A tartályok elektrokémiai potenciálját (μ_L a bal és μ_R a jobb oldalon) a V_{bias} feszültség szabályozza.

A pumpálás mechanizmusának megértéséhez tegyük fel, hogy $\mu_L < \mu_R$. A cél annak az elérése, hogy a pumpálás minden egyes ciklusában egy elektron a bal oldali tartályból bejusson a kvantumpötty $N + 1$ -edik energiaszintjére, majd onnan a jobb oldali tartály felé távozzon. Az elektron számára érzékelhető potenciálfelületet és ennek ciklikus változását az 1.20.(a) ábrán tüntettük fel. A nyilakat követve, jól látható a mechanizmus lényege. Induljunk csak ki a bal oldali állapotból, ahol a V_L kapufeszültség úgy van beállítva, hogy alacsony energiagátat állítson az elektron mozgása elé, a V_R kapufeszültség viszont úgy, hogy egy nagyon magas, gyakorlatilag átjárhatatlan gátat jelentsen. Miután a kvantumpötty egyensúlyba kerül a bal oldali tartállyal, az $N + 1$ -edik szint betöltöttsége

$$P_L = \frac{1}{e^{-\varepsilon_1/k_B T} + 1} \quad (1.46)$$



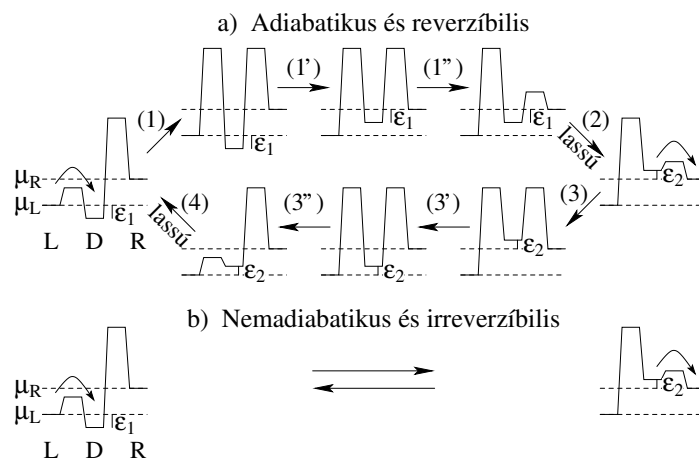
1.19. ábra. (a) Félvezető és (b) molekuláris kvantumpöttyök elektronok pumpálására. (c) a molekuláris kvantumpötty energiaszerkezete sematikus. A részleteket lásd a szövegben.

lesz a Fermi statisztikának megfelelően. Ez $\varepsilon_1 \gg k_B T$ esetén közel 1 értéket vesz fel, vagyis a szint betöltöttnek tekinthető. Ha most (1) lezárjuk a bal oldali kaput (az energiáját felemelésével); majd (1') a kvantumpötty $N + 1$ -edik szintjét $\mu_L - \varepsilon_1$ -ről felemeljük $\mu_R - \varepsilon_1$ -re; és végül (1'') kinyitjuk a jobb oldali kaput (a gát lecsökkentésével), akkor a kvantumpötty a jobb oldali tartállyal lesz egyensúlyban. Ha ezek után (2) lassan (kvázisztatikusán vagy – más terminológiával – adiabatikusán) elkezdjük emelni a kvantumpötty energiáját egészen $\mu_R + \varepsilon_2$ -ig, akkor az elektron szépen lassan elhagyja a rendszert a jobb oldali tartály felé. Amennyiben $\varepsilon_2 \gg k_B T$, akkor a

$$P_R = \frac{1}{e^{\varepsilon_2/k_B T} + 1} \quad (1.47)$$

Fermi statisztika értelmében az $N + 1$ -edik szint gyakorlatilag kiürül. Hasonló módon a (3), (3'), (3''), majd a lassú (4) jelű átmenetek segítségével visszajutunk a kiindulási állapotba, és mindeközben $P_L - P_R \approx 1$ elektront átpumpáltunk az alacsonyabb elektrokémiai potenciálú bal oldali tartályból a magasabb elektrokémiai potenciálú jobb oldaliba. A folyamat lényeges tulajdonsága, hogy reverzibilis: elég lassan (kvázisztatikusán) végezve nem jár energiavesztéssel, és a ciklust megfordítva az elektronok visszajuttathatók a jobb oldali tartályból a bal oldaliba a megfelelő energia visszanyerésével.

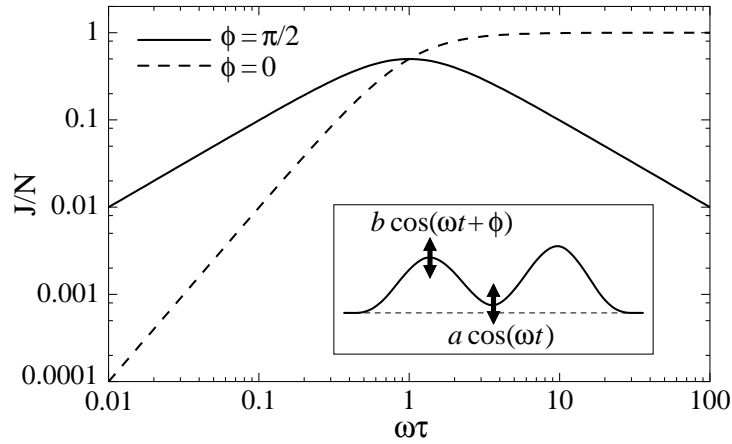
A kísérletek μm -es méretskáláján viszonylag könnyű az elektródákat elkészíteni, majd ezek feszültségét tetszés szerint szabályozni. Ha azonban a molekuláris (nm-es) méretskáláig szeretnénk lejutni, akkor a sokféle állapot megvalósítása és a köztük



1.20. ábra. A pumpálás kétféle alapmechanizmusa. A részleteket szintén lásd a szövegben.

lévő folytonos átmenetek nagy problémát jelentenek. Ennek a megoldására, a molekuláris ionpumpák analógiájának segítségével mutattuk meg [T12], hogy mindössze két (a bal- és jobb oldali) állapot közötti kapcsolattal is megvalósítható a pumpálás, ahogy ezt az 1.20.(b) ábra illusztrálja. Visszetekintve az 1.4. ábrára, a hasonlóság azonnal szembetűnő. Ez a folyamat természetesen irreverzibilis, viszont egyszerűségénél fogva használható lehet molekuláris elektronpumpák tervezésére.

Egy ilyen lehetséges elrendezést vázoltunk fel az 1.19.(b) ábrán. Ismert [60, 61, 62, 63], hogy π -kötések láncolata jól alkalmazható molekuláris vezetékként, amelyet ha két σ -kötéssel megszakítunk, akkor a köztük lévő szakasz kvantumpöttyként viselkedik. Az 1.19.(b) ábrának megfelelő energiaszerkezetet tüntettük fel a (c) panelen, külön kiemelve a HOMO (highest occupied molecular orbital) és LUMO (lowest unoccupied molecular orbital) pályákat. Ezen utóbbit lehet elektronok pumpálására felhasználni, a feljebb ismertetett félvezető kvantumpöttyök $N + 1$ -edik szintjének analógiájára. Mivel itt nincs lehetőség elektródák kiépítésére, a gátak és a kvantumpötty energiáját a hozzájuk kapcsolt R és R' oldalláncok (residue) elektronegativitásával szabályozhatjuk. Ha sikerülne egy olyan katalitikus zsebet létrehozni (ez jelenleg a módszerünk megvalósításának legnagyobb gyakorlati akadály), amely egy $S \rightarrow P$ (szubsztrátum \rightarrow produktum) reakciót katalizálna (ahogy pl. számos fehérje ATP-t hidrolizál), akkor az oldalláncok két állapot közötti váltogatásával elektronokat lehetne a vezetón keresztül pumpálni. Ráadásul, ahogy mindjárt látni fogjuk, az is elég, ha a kvantumpötty mellett csupán az egyik gátat moduláljuk.



1.21. ábra. Log-log grafikonja a pumpálási áramnak ($N = abP^{(0)}(1 - P^{(0)})/[\tau 2(s + s^{-1})^2]$ -tel normálva) a modulálás frekvenciájának függvényeként a kétféle alapmechanizmusra, a betétábrán felvázolt rendszerben.

Altshuler és Glazman [64], valamint Switkes és társai [58] megmutatták, hogy az adiabatikus pumpálás szükséges feltétele, hogy legalább két paraméter lassú, ciklikus modulálása fázisban el legyen tolva egymáshoz képest. Hogy ezt beláthassuk, tegyük fel, hogy az elektrokémiai potenciál a két oldalon megegyezik. Ha most csak egyetlen paramétert modulálnánk (ami ekvivalens két paraméter fázisban történő modulálásával), akkor egy ciklus végrehajtása során a rendszer ugyanazokon az egyensúlyi állapotokon menne keresztül oda és vissza, így a végállapot nem különbözhetne a kezdőállapottól (bármilyen, a ciklus első felében történt változás, visszaalakulna a második felében). Természetesen ez az érvelés csak a kvázisztatikus határesetben érvényes. Az általunk javasolt módszer, amely egyetlen paraméter modulálásával (két állapot közötti változtatásával) írható le, azért működhet, mert nem kvázisztatikus.

Hogy kvantitatíven is összehasonlíthassuk ezt a két kvalitatíve különböző mechanizmust, vizsgáljuk meg az 1.21. betétábrán felvázolt nagyon egyszerű rendszert. Ebben egy potenciálvölgy (kvantumpötty) és potenciálgát energiáját szinuszosan moduláljuk kis (a és b) amplitúdóval, ω frekvenciával és ϕ fáziskülönbséggel:

$$a(t) = a \cos(\omega t) , \quad (1.48)$$

$$b(t) = b \cos(\omega t + \phi) . \quad (1.49)$$

$\phi = 0$ felel meg a mi módszerünknek, és $\phi \neq 0$ az adiabatikus (ezen belül is $\phi = \pi/2$ a tisztán adiabatikus) pumpálásnak.

A modulálatlan esetben jelöljük k_{DL} -lel és k_{DR} -rel az elektronnak (részecskének) a völgyből a bal- és jobb oldali gátakon való átmeneti rátáját, valamint k_{LD} -vel és k_{RD} -vel az ellentétes irányú folyamatok rátáját. Feltételezve, hogy a két oldalon azonos az elektrokémiai potenciál ($\Delta\mu = \mu_{\text{R}} - \mu_{\text{L}} = 0$), a részletes egyensúly feltétele a

$$\frac{k_{\text{LD}}}{k_{\text{DL}}} = \frac{k_{\text{RD}}}{k_{\text{DR}}} \quad (1.50)$$

követelményt támasztja a rátákkal szemben. Ezek után a völgy (LUMO) P betöltési valószínűségének időfejlődését a következő kinetikus egyenlettel írhatjuk le:

$$\dot{P} = - \left[k_{\text{DL}} e^{(a(t)-b(t))/k_{\text{B}}T} + k_{\text{DR}} \right] P + \left[k_{\text{LD}} e^{-b(t)/k_{\text{B}}T} + k_{\text{RD}} e^{a(t)/k_{\text{B}}T} \right] (1 - P) . \quad (1.51)$$

Kis a és b amplitúdók esetén az exponenciális függvények sorbafejtésével az egyenlet könnyen megoldható [65], és az elektronok átlagos áramára az adódik, hogy

$$J = \omega ab \frac{P^{(0)} (1 - P^{(0)})}{2(s + s^{-1})^2} \frac{\sin(\phi) + \omega\tau \cos(\phi)}{1 + \omega^2\tau^2} , \quad (1.52)$$

ahol $\tau = 1/(k_{\text{LD}} + k_{\text{DL}} + k_{\text{RD}} + k_{\text{DR}})$ a rendszer relaxációs ideje és $P^{(0)} = (k_{\text{LD}} + k_{\text{RD}})\tau = 1/(1 + k_{\text{DR}}/k_{\text{RD}})$ a stacionárius Fermi valószínűség a völgy (LUMO) betöltöttségére a modulálatlan esetben. $s = \sqrt{k_{\text{DL}}/k_{\text{DR}}}$ jellemzi a rendszer aszimmetriáját. Az áramot az 1.21. ábra mutatja a tisztán adiabatikus ($\phi = \pi/2$) és a nemadiabatikus ($\phi = 0$) pumpálási mechanizmusra a frekvencia függvényében. A várakozásnak megfelelően kis frekvenciákra ($\omega \ll \tau$) az adiabatikus mechanizmus sokkal hatékonyabb, és minden ciklusban állandó valószínűséggel pumpál át egy elektront ($J \propto \omega$). Ezzel szemben a nemadiabatikus mechanizmussal 0-hoz tart a ciklusonkénti átpumpált elektronok valószínűsége ($J \propto \omega^2$). Nagy frekvenciákra azonban ($\omega \gg \tau$), a nemadiabatikus mechanizmus válik hatékonyabbá. Mivel itt az áram magasabb értéket ér el, és egy ilyen eszköz sokkal egyszerűbben kivitelezhető, mint egy adiabatikus, ennek a mechanizmusnak várható nagyobb gyakorlati haszna.

Ezzel tehát sikerült demonstrálnunk, hogy a bio-molekuláris pumpák analógiájára, hatékonyan lehet nemegyensúlyi kémiai reakciókat felhasználni elektronok hajtására molekuláris vezetékekben. Ennek akkor lehet majd különösen nagy jelentősége, ha a mikroelektronika elér a molekuláris szintre, és a nagy mennyiségű párhuzamos számítás elvégzéséhez az energiát is és az elektronokat is lokálisan kell biztosítani.

Összefoglalás

A fejezetben ismertetett eredmények a következőképpen foglalhatók össze:

- Kidolgoztunk egy racsnit típusú modellt a szerkezetileg nagyon hasonló, mégis egymással szembe mozgó motorfehérjék haladási irányának magyarázatára. Ennek lényege, hogy a mikrotubulus és a motorfehérje közötti kölcsönhatás megváltoztatása nélkül, csupán az ATP-hidrolízis ciklusa során az egyes állapotokban eltöltött idő hangolásával változtatható a haladási irány.
- Bevezettük a völgybeli relaxációs idő fogalmát, amely azt jellemzi, hogy egy potenciálvölgy hirtelen megváltozása után mennyi idő elteltével lehet a rendszert ismét lokálisan egyensúlyinak tekinteni. Ez a mennyiség analitikus formulával megadható, és a legszélsőségesebb esetekben is az elvárásoknak megfelelő eredményt ad.
- Tanulmányoztuk a hőmérsékletkülönbségen alapuló Brown racsnik energiaátalakításának hatásfokát, és megállapítottuk, hogy olyan esetekben, amikor a hőmérséklet térben inhomogén, a részecske potenciális energiáján keresztül folyó hőáram reverzibilis a kvázisztatikus határesetben, a kinetikus energián keresztül folyó hőáram pedig elvileg tetszőlegesen lecsökkenthető, így a Carnot hatásfok, bármennyire megközelíthető.
- Általánosítottuk a hatásfok definícióját oly módon, hogy nem magát az elvégzett munkát viszonyítjuk a befektetett energiához, hanem az adott feladat elvégzéséhez minimálisan szükséges befektetett energiát. Így terhelőerő nélkül is jellemezhető és összehasonlítható a különféle motorfehérjék energiafelhasználásának hatékonysága.
- A Brown racsnik működési elvére épülő új technológiai alkalmazásokat javasoltunk:
 - Makromolekulák (vagy egyéb kolloid méretű objektumok) szeparálására kidolgoztunk egy olyan eljárást, amelyben a részecskéket egy akadályrendszeren keresztül egy adott irányban oda-vissza hajtva, a diffúziós állandójuktól függően, különböző nagyságú átlagsebességre tesznek szert a hajtásra merőleges irányban.

- Olyan elrendezésű fűrészfog-potenciál kialakítását javasoltunk szupravezető vortexek számára másodfajú szupravezetőkben, amely segítségével a vortexek eltávolíthatók az anyag belsejéből, váltóáram jelenlétében.
- Egy olyan elektronpumpának az elvi alapjait dolgoztuk ki (a biológiai ionpumpákkal analógiában), amely alkalmas lehet arra, hogy molekuláris vezetékekben elektronokat hajtson egy adott irányba.

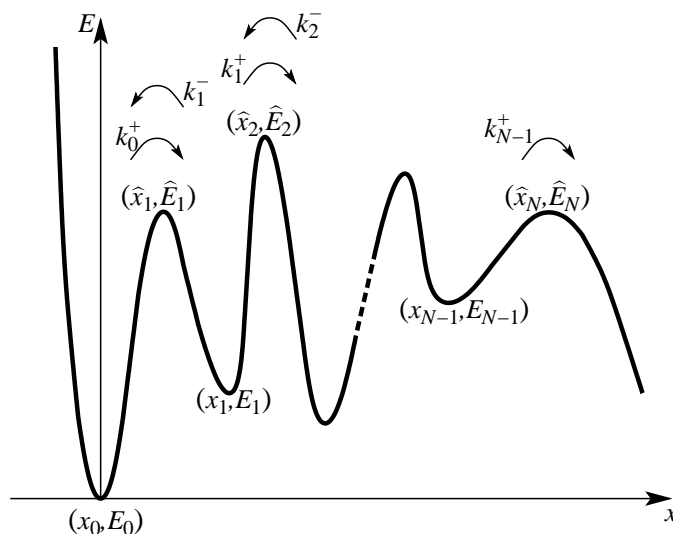
2. fejezet

Molekuláris adhézió

Előzmények

A biomolekulák térszerkezetét, egymással való kölcsönhatásait, ill. ezeken keresztül a dinamikájukat alapvetően nemkovalens, másodlagos kötések határozzák meg. Ezen kötések erősségéről, stabilitásáról (amely a μs -októl egészen az évekig terjedő időskálát öleli fel) jelenleg nem sokat tudunk. A legújabb molekuláris szintű technikák azonban lehetővé teszik a molekuláris kötések direkt vizsgálatát külső húzóerők alkalmazásával. Ez, az E. Evans nevéhez fűződő [66, 67] és dinamikus erőspektroszkópia („dynamic force spectroscopy”) néven ismertté vált módszer – a hagyományos molekulaszervezeti vizsgálatokat kiegészítve – részletes információt nyújt a molekulák közötti adhéziós kötések szétszakadása vagy a fehérjedomének elválása, letekeredése során végigjárt energiaszint (pontosabban szabadenergia-felszín) alakjáról (szemléltetésként lásd a 2.1. ábrát). Olyan energiagátakat és -völgyeket térképeznek fel, amelyek más, egyensúlyközeli kinetikai mérések számára elérhetetlenek, ugyanakkor a molekulák funkciója vagy a kötések létrejötte/megszűnése szempontjából alapvető fontosságúak. A teljesség igénye nélkül felsorolok néhányat az eddig vizsgált rendszerek közül: biotin–avidin, biotin–streptavidin, PSGL1–L-selectin kötések elszakadása, lipid molekulák kihúzása membránból [66, 68]; CD2–CD48 adhéziós kötés [69]; IgG kötések [70]; aktin–miozin kötés [71]; kromoszómaszerkezet [72]; DNS és RNS megnyúlása [73]; különféle fehérje–fehérje kötések [74]; Ran–importin kötés [75]; vagy a titin molekula megnyúlása [76, 77].

A molekulák húzása általában egy időben lineárisan növekvő $f = rt$ erővel történik, ahol t jelöli az időt, r pedig az úgynevezett terhelési rátát. Ezt a gyakorlatban legtöbbször egy lágy (K rugóállandójú) erőátviteli rendszer egyenletes (v sebességű)

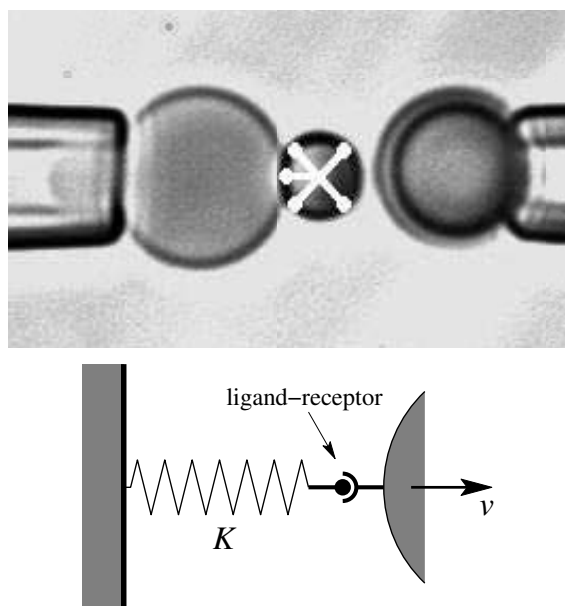


2.1. ábra. Az adhéziós kötések elszakadása során bejárt energiefelszín illusztrációja az x reakciókoordináta mentén. 0 indexszel jelöljük a kötött állapotot reprezentáló energiavölgyet, és magasabb indexszel az ettől jobbra elhelyezkedő energiagátakat és közbülső energiavölgyeket. A szomszédos völgyek közötti átmeneti rátákat is feltüntettük.

nyújtásával érik el (lásd a 2.2. ábra alsó paneljét). Az egyenletes nyújtás egy $f = Kvt$ húzóerőt biztosít, amely így egy $r = Kv$ terhelési rátának felel meg. Mikropipettával történő húzásnál az erőátviteli rendszer leggyakrabban egy membránsákocskára (2.2. ábra felső panel), AFM-nél egy hosszú polimerszál (mint entropikus rugó), optikai csipesznél pedig a csapda saját potenciálja. Azért fontos, hogy az erőátviteli rendszer sokkal lágyabb legyen, mint maga a vizsgált kötés, hogy az elszakadás közben fellépő kis elmozdulások ne befolyásolják a húzóerő nagyságát.

Alacsony terhelési ráta mellett az elszakadást az egyensúlyhoz közeli dinamika szabja meg. Több nagyságrenden keresztül növelve a terhelési rátát, azonban egyre nagyobb erőig juthatunk el mire az elszakadás bekövetkezik, így egyre távolodva az egyensúlyi viselkedéstől, más-más energiagátak tűnnek elő és válnak relevánssá. Ahogy hamarosan látni fogjuk, az energiagátaknak nemcsak a nagysága, hanem még a helye is meghatározható. Amit mérni szokás, az a terhelési ráta adott értéke mellett az elszakadási idő (vagy az ezzel ekvivalens elszakadási erő) eloszlása a kísérlet sokszori elvégzése után, ahogy azt a 2.3. ábrán látható példa is illusztrálja a bal oldali panelen.

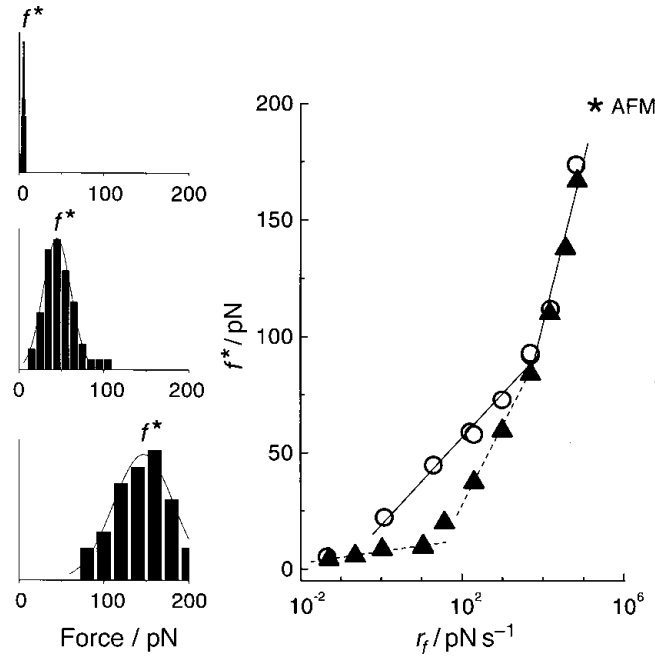
Ha \mathcal{N} -nel jelöljük a folyamatban résztvevő molekulák atomjainak a számát, akkor az elszakadást egy $3\mathcal{N}$ -dimenziós konfigurációs térbeli trajektóriával lehet leírni. Egy



2.2. ábra. Fent: A molekuláris kötések vizsgálatára használt dinamikus erőspektroszkópia egy kísérleti megvalósítása mikropipettákkal. A szétválasztandó (ligand–receptor) molekulapár a jobb oldali két, $1\text{--}2\ \mu\text{m}$ átmérőjű üveggyöngy között helyezkedik el, a lágy erőátviteli rendszert pedig a membránsák biztosítja a bal oldalon. (Forrás: [66]) Lent: Ennek egy sematikus illusztrációja.

ilyen részletes leírás molekuláris dinamikai szimulációkat igényelne, nagyságrendekkel elmaradna a kísérletileg releváns időskáláktól, és nem világítaná meg a folyamat lényegét. Mivel azonban ezek a szerkezeti átalakulások, a kémiai reakciókhoz hasonlóan, a $3\mathcal{N}$ -dimenziós térben egy jól meghatározott útvonal köré korlátozódnak, azt a szokásos megközelítést alkalmazhatjuk, hogy a folyamatot egyetlen úgynevezett reakciókoordinátával írjuk le. Mivel jelen esetben a húzás egy adott irányban történik, a reakciókoordinátát úgy definiálhatjuk, mint a vizsgált rendszer (molekula, molekulapár) megnyúlása a húzás irányában. Ezt a mennyiséget ezentúl x -szel fogjuk jelölni, ahogy a 2.1. ábrán is látható. Ennek az ábrának a jelöléseit fogjuk követni a reakciókoordináta mentén tapasztalható energiagátak és -völgyek pozíciójának és energiájának jellemzésére is (a kötött állapotra $x_0 = 0$ -t és $E_0 = 0$ -t választunk az egyszerűség kedvéért). Feltesszük továbbá, hogy a gátak $k_B T$ -nél jóval magasabbak, különben nem is lenne igazán értelme gátakról beszélni.

Mivel az egyes völgyeken belül (figyelem nem az egész energiaszín mentén!) a relaxációs idő (IRT) a ns tartományába esik, a kísérletek pedig ennél sokkal lassúbbak



2.3. ábra. Egy tipikus kísérleti eredmény. A bal oldali panel a biotin–streptavidin kötés elszakadási erőeloszlását (és ennek móduszát f^*) mutatja 0,05, 20 és 60 000 pN/s terhelési ráták estén (fentről lefelé). A jobb oldali panelen a mérésekből meghatározott $f^* - \ln(r)$ adatok láthatók biotin–streptavidin (körök) és biotin–avidin (háromszögek) kötésekre. A mérések mikropipettával történtek, kivéve a *-gal jelölt pontban, ahol AFM-mel húzták a biotin–streptavidin molekulapárt. (Forrás: [66])

(s, ms, és csak nagyon ritkán a μ s nagyságrendjében zajlanak), a rendszer valószínűsége minden pillanatban lokálisan egyensúlyinak tekinthetjük a völgyek belsőjében. Következésképpen, a gátakon való átugrást (aktiválást) jól jellemezhetjük a Kramers formulának megfelelő kinetikus rátákkal:

$$k_i^- = \omega_0 \alpha_i \hat{\alpha}_i e^{-(\hat{E}_i - E_i)/k_B T}, \quad (2.1)$$

$$k_i^+ = \omega_0 \alpha_i \hat{\alpha}_{i+1} e^{-(\hat{E}_{i+1} - E_i)/k_B T}, \quad (2.2)$$

ahol ω_0 a próbálkozási frekvencia (tipikusan 10^8 s^{-1} nagyságrendjében), α_i és $\hat{\alpha}_j$ pedig (ordo 1 nagyságrendű) geometriai faktorok, melyek az i -edik völgy aljának és a j -edik gát tetejének alakját jellemzik. Feltesszük, hogy a kötött állapotból balra nem lehet ugrani ($k_0^- \equiv 0$), és hogy az N -edik gáton való átjutás után bekövetkezik az elszakadás, ahonnan már többet nincs visszatérés (hiszen a húzás végérvényesen eltávolítja egymástól a molekulákat).

Az energiaszint a húzás során nem állandó. Egy adott pillanatban alkalmazott f húzóerő egy $-fx$ lineáris függvénnyel járul még hozzá. Feltéve, hogy a gátak (völgyek) elég élesek, eltekinthetünk attól, hogy az aljuk (tetejük) pozíciója ezáltal eltolódik. Ez a közelítés nagymértékben leegyszerűsíti a számolásokat, és csak nagyon kicsi (tipikusan mérési hibán belüli) hibát okoz. Így tehát mindössze a gátak és völgyek energiaváltozását kell figyelembe vennünk:

$$E_i(f) = E_i(0) - fx_i, \quad (2.3)$$

$$\hat{E}_j(f) = \hat{E}_j(0) - f\hat{x}_j, \quad (2.4)$$

amelyeken keresztül a $k_i^-(f)$ és $k_i^+(f)$ ráták is természetes módon az erő függvényeivé válnak. (A rövidség kedvéért nem mindig fogjuk explicite jelezni a mennyiségek f -függését ott, ahol egyértelmű.)

Evans munkáját követve [66, 67] legegyszerűbben vizsgáljuk meg, hogy mi várható a legegyszerűbb esetben, amikor is a kötött állapotból egyetlen (\hat{E}_1 nagyságú \hat{x}_1 távolságra lévő) energiagáton kell átjutni az elszakadáshoz. Ennek a rátája (az indexek elhagyásával: $k(f) \equiv k_0^+(f)$) a fentiek alapján így írható:

$$k(f) = k(0)e^{f\hat{x}_1/k_B T}. \quad (2.5)$$

A kötött állapot $P(t)$ valószínűségének időfejlődését a

$$\dot{P}(t) = -k(rt)P(t) \quad (2.6)$$

kinetikus egyenlet írja le. $P(0) = 1$ kezdőfeltétel mellett ennek megoldása

$$P(t) = e^{-\int_0^t k(rt') dt'}, \quad (2.7)$$

bár ezt a későbbiekben nem fogjuk kihasználni. A (2.6) kinetikus egyenlet segítségével az elszakadás időpontjának valószínűsége azonnal felírható így:

$$\rho_t(t) = -\dot{P}(t) = k(rt)P(t), \quad (2.8)$$

amelyből egy egyszerű $f = rt$ változcseré után az elszakadás pillanatában kifejtett erő valószínűsége a

$$\rho_f(f) = \frac{1}{r}k(f)P\left(\frac{f}{r}\right) \quad (2.9)$$

kifejezés adódik. Ez várhatóan egy unimodális eloszlás, hiszen kis f -ekre még ritkán szakad el a kötés, nagyon nagy f -ekre pedig már szinte biztos hogy túl van az elszakadáson. Lesz tehát egy közbülső, tipikusnak nevezhető f^* érték (a módusz), amelynél felveszi a valószínűsége sűrűség a maximumát. Ezt a

$$\left. \frac{dp_f(f)}{df} \right|_{f=f^*} = 0 \quad (2.10)$$

egyenlet adja meg, amely a $\tau(f) \equiv 1/k(f)$ karakterisztikus elszakadási idő bevezetésével és a (2.6) kinetikus egyenlet újbóli behelyettesítésével a

$$\left. \frac{d\tau(f)}{df} \right|_{f=f^*} = -\frac{1}{r} \quad (2.11)$$

alakra hozható. Ennek a megoldása a (2.5) kifejezés felhasználásával:

$$f^* = \frac{k_B T}{\hat{x}_1} \ln \left[\frac{r\tau(0)\hat{x}_1}{k_B T} \right], \quad (2.12)$$

amelyből jól látszik, hogy az f^* tipikus elszakadási erő az r terhelési ráta logaritmusával egyenesen arányosan nő. A mérésekből ezért szokás az $f^* - \ln(r)$ összefüggést elsőként kiértékelni (lásd a 2.3. ábrán). Az arányossági tényező ugyanis azonnal megadja az energiagát \hat{x}_1 helyét, a tengelymetszet pedig (szemilogaritmikus skálán) a $k(0) \equiv 1/\tau(0)$ értékén keresztül az \hat{E}_1 energiagát nagyságát.

Ennek az egyszerű számolásnak létezik néhány további elméleti finomítása: pl. az esetleges visszakötődés figyelembevételével [78], vagy a húzó potenciál, a gát és a völgy alakjának részletesebb kezelésével [78, 79].

2.1. Szétválás több energiagáton keresztül [T13]

Ahogy a 2.1. ábrán már bevezettük, az elválási útvonal (reakciókoordináta) mentén előfordulhat több energiagát is. Kísérleti szempontból is ezek az érdekesebb rendszerek. A tárgyalás megkönnyítése céljából vezessük be a következő egyszerűsítő jelöléseket bármilyen, $0 \leq i < j \leq N$ esetén:

$$\Delta x_{i,j} = \hat{x}_j - x_i, \quad (2.13)$$

$$\Delta E_{i,j}(f) = \hat{E}_j(f) - E_i(f) = E_{i,j}(0) - f \Delta x_{i,j}, \quad (2.14)$$

$$k_{i,j}(f) = \omega_0 \alpha_i \hat{\alpha}_j e^{-\Delta E_{i,j}(f)/k_B T} = k_{i,j}(0) e^{f \Delta x_{i,j}/k_B T}, \quad (2.15)$$

$$\tau_{i,j}(f) = 1/k_{i,j}(f) = \tau_{i,j}(0) e^{-f \Delta x_{i,j}/k_B T}. \quad (2.16)$$

Feltételezve, hogy a kötött állapot energiája (még a kísérletben használt legnagyobb húzóerő esetén is) lényegesen alacsonyabb, mint a közbülső völgyeké: $E_i(f) - E_0(f) \gg k_B T$, Evans megmutatta [66, 67, 68], hogy a karakterisztikus elszakadási idő a

$$\tau(f) \approx \sum_{j=1}^N \tau_{0,j}(f) \quad (2.17)$$

kifejezéssel jól közelíthető. Feltételezve továbbá, hogy az elszakadás úgy történik, mintha ezzel a karakterisztikus idővel egyetlen effektív energiavölgyből szabadulna ki a rendszer, $\tau(f)$ -et behelyettesíthetjük a (2.11) egyenletbe, és kapjuk, hogy

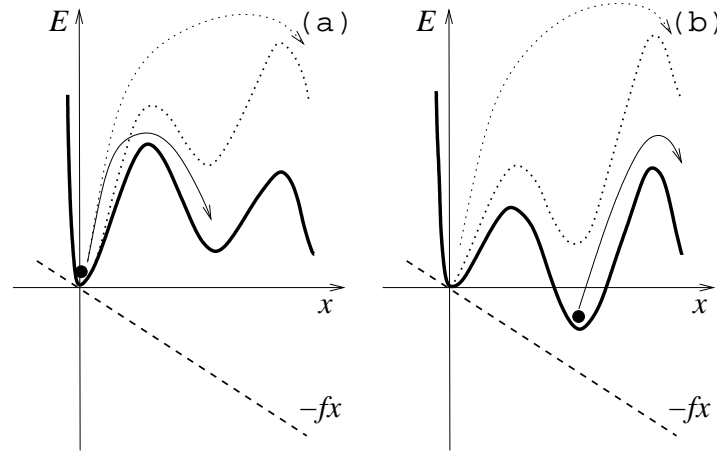
$$r = \left[\sum_{j=1}^N \frac{\Delta x_{0,j}}{k_B T} \frac{e^{-f^* \Delta x_{0,j}/k_B T}}{k_{0,j}(0)} \right]^{-1}. \quad (2.18)$$

Ez az egyenlet azt jósolja, hogy az $f^* - \ln(r)$ görbe lényegében az N energiagátnak megfelelő N egyenes felső burkolója. Ez szemléletesen a következőképpen értelmezhető. Kis terhelési ráták esetén még kis erőnél következik be az elszakadás, és így a dinamikát alapvetően a legnagyobb gát szabja meg. Növelve a terhelési rátát, egyre nagyobb erőnél következik be az elszakadás, és mivel a távolabbi külső gátak gyorsabban csökkennek az erő függvényében, mint a belsők (lásd a 2.4.(a) ábrát), elkezdenek ezek a belső gátak dominálni, egyre emelve a görbe meredekségét a saját egyenesüknek megfelelően a (2.12) kifejezés alapján.

Így N szegmens megjelenése esetén (erre jó példa a 2.3. ábra), a kísérletek konklúziójaként N gát helyét és energiáját szokás megadni.

Az $E_i(f)/k_B T \gg E_0/k_B T$ feltételezés azonban nem mindig állja meg a helyét. 100 pN-os erők esetén már könnyen megeshet, hogy egy közbülső völgy akár mélyebbre is kerüljön, mint a kötött állapot. Ezt illusztrálja a 2.4.(b) ábra. Ekkor már az elszakadást az ebből a völgyből való kiszabadulás fogja dominálni, teljesen érvénytelenítve Evans fenti jóslatát. Így tehát a kísérletekből levont következtetések is alapvetően hibásnak bizonyulhatnak.

A probléma kezelésére egy részletesebb és általánosabb érvényű számolást végeztünk az $E_i(f)/k_B T \gg E_0/k_B T$ feltételezés elhagyásával [T13], és megmutattuk, hogy N szegmens helyett akár $N(N+1)/2$ szegmens is megjelenhet az $f^* - \ln(r)$ görbén. Ez különösen lényeges 3 szegmens kísérleti megfigyelése esetén, hiszen így



2.4. ábra. Két energiafelület egy-egy közbülső völgygel. Terheletlenül (pontosított vonalak) mindkettőben a kötött állapotból a külső gáton való átjutás limitálja a szétválást. Nagy húzóerők esetén (szaggatott vonalak), azonban úgy deformálódnak az energiafelületek (folytonos vonalak), hogy az (a)-ban a kötött állapotból a belső gáton való átjutás limitál, míg a (b)-ben a közbülső völgyből a külső gáton való átjutás.

már mindössze 2 energiagát feltételezésével leírhatóvá válik a rendszer. Tehát a széles körben elterjedt Evans-féle kiértékelés nemcsak a gátak helyét de még a számát is tévesen adhatja meg.

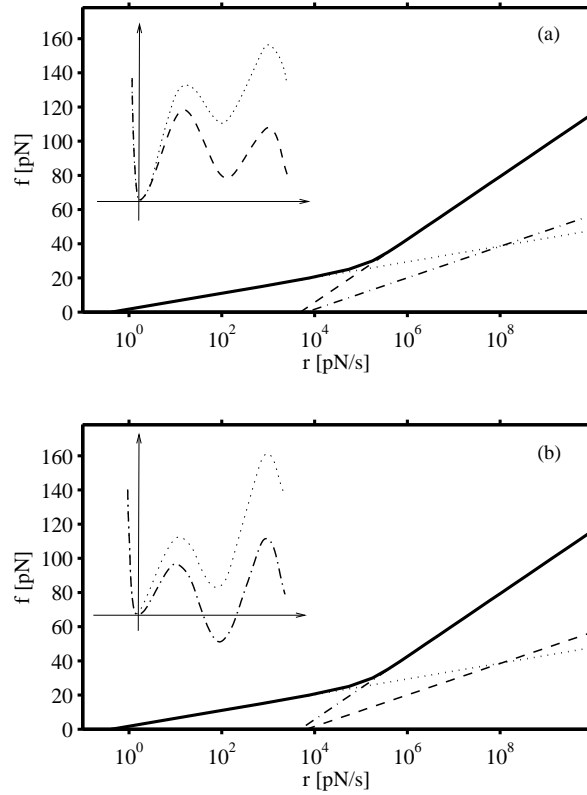
A számolás során ismét feltételezzük, hogy egyetlen karakterisztikus $\tau(f)$ idővel jól jellemezhető az elszakadás (ezt még később diszkutálni fogjuk). Ennek meghatározásához alkalmazzuk a következő trükköt. Rögzítsük le f értékét, és minden egyes szétválás után azonnal helyezzük vissza a rendszert a bal oldali kötött állapotba. Az így kialakuló stacionárius áram éppen $\tau(f)$ reciproka. Hogy ezt kiszámolhassuk, a következő kinetikus egyenletrendszert kell megoldanunk (az f -től való függést megint nem jelölve explicit módon):

$$P_i k_i^+ - P_{i+1} k_{i+1}^- = 1/\tau \quad 0 \leq i \leq N-2, \quad (2.19)$$

$$P_{N-1} k_{N-1}^+ = 1/\tau, \quad (2.20)$$

$$\sum_{i=0}^{N-1} P_i = 1, \quad (2.21)$$

ahol P_i az i -edik völgy betöltési valószínűsége a stacionárius esetben, melyek normáltóságát az utolsó egyenlet biztosítja. Az első N egyenlet pedig a valószínűségi áramot írja le minden egyes gáton keresztül. Ez az $N + 1$ lineáris egyenlet egyértelműen



2.5. ábra. A 2.4 ábrán felvázolt két különböző energiafelület, szinte teljesen azonos $f^* = -\ln(r)$ görbét (folytonos vonal) eredményez. A $k_{0,2}$, $k_{0,1}$ és $k_{1,2}$ rátákhoz tartozó egyeneseket pontozott, szaggatott, ill. szaggatott-pontozott vonalakkal tüntettük fel. A használt paraméterek: (a) $(\hat{x}_1, \hat{E}_1) = (1 \text{ nm}, 11 k_B T)$, $(x_1, E_1) = (1.5 \text{ nm}, 8 k_B T)$ és $(\hat{x}_2, \hat{E}_2) = (2 \text{ nm}, 20 k_B T)$, (b) $(\hat{x}_1, \hat{E}_1) = (0.5 \text{ nm}, 12 k_B T)$, $(x_1, E_1) = (1 \text{ nm}, 9 k_B T)$ és $(\hat{x}_2, \hat{E}_2) = (2 \text{ nm}, 20 k_B T)$.

meghatározza az $N + 1$ változót (P_i és τ), és könnyen megoldható rekurzív módon. Először $P_{N-1}\tau$ -t fejezzük ki az (2.20) egyenletből, aztán $P_{N-2}\tau$ -t, ..., és végül $P_0\tau$ -t rekurzívan az (2.19) egyenletekből:

$$P_i\tau = \frac{1}{k_i^+} + \frac{k_{i+1}^-}{k_i^+ k_{i+1}^+} + \dots + \frac{k_{i+1}^- \dots k_{N-1}^-}{k_i^+ k_{i+1}^+ \dots k_{N-1}^+} = \sum_{j=i+1}^N \frac{1}{k_{i,j}} = \sum_{j=i+1}^N \tau_{i,j}. \quad (2.22)$$

Már csak a valószínűségek normáltságát leíró (2.21) egyenletet nem használtuk fel. Ebből τ egyszerűen kifejezhető:

$$\tau = \sum_{i=0}^{N-1} P_i\tau = \sum_{i=0}^{N-1} \sum_{j=i+1}^N \tau_{i,j}. \quad (2.23)$$

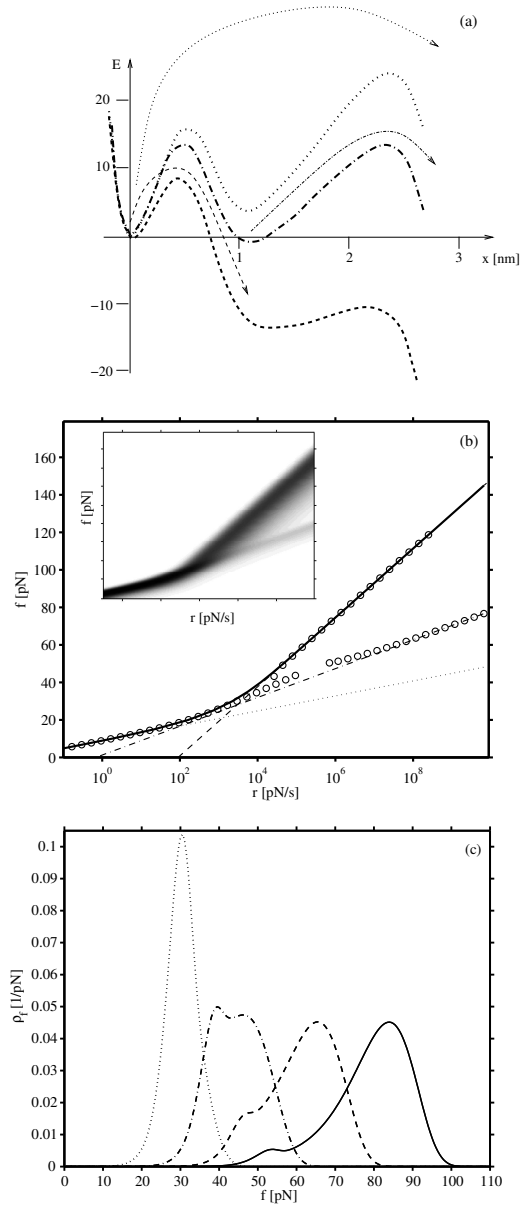
Ez az Evans-féle (2.17) formula általánosításának tekinthető. Behelyettesítve a (2.11) egyenletbe végül azt kapjuk, hogy

$$r = \left[\sum_{i=0}^{N-1} \sum_{j=i+1}^N \frac{\Delta x_{i,j}}{k_B T} \frac{e^{-f^* \Delta x_{i,j}/k_B T}}{k_{i,j}(0)} \right]^{-1}. \quad (2.24)$$

A szummának mind az $N(N+1)/2$ tagja külön-külön egy aktiválási folyamatot ír le és egy egyenesnek felel meg az $f-\ln(r)$ grafikonon. Mivel adott terhelési ráta esetén, az ezek által meghatározott $N(N+1)/2$ erőérték közül a legnagyobb (a legnehezebb aktiváláshoz tartozó) limitálja a szétválást, az $f^*-\ln(r)$ görbe lényegében a felső burkolóját követi az $N(N+1)/2$ egyenesnek. Erre mutat egy példát a 2.5. ábra. Ez az ábra egy újabb fontos következményére világít rá az eredményünknek. Nevezetesen arra, hogy ilyen mérésekből több gát esetén már nem lehet egyértelműen meghatározni a gátak helyét és energiáját. Különböző (bár általában kis számú) elrendezések ugyanazt a görbét eredményezhetik. Ezek megkülönböztetésére sajnos másféle mérési módszerek szükségesek.

Többször hivatkoztunk már arra, hogy a szétválást minden pillanatban egyetlen $\tau(f)$ karakterisztikus idővel jellemzett aktiválási folyamatként kezeltük. A numerikus szimulációk ezt a közelítést nagymértékben alátámasztják. Vannak azonban speciális esetek, amikor a megjósolt viselkedés mellett extra effektusok lépnek fel. Ilyen pl. amikor egy közbülső völgy már a húzás elején hasonló energiájú, mint a kötött állapot (lásd a 2.6.(a) ábrát), és ezért nem elhanyagolható valószínűség jellemzi. Növekvő erőkre aztán ebből a közbülső völgyből gyorsan megtörténik a szétválás, de a kötött állapotból majd csak sokkal később. Ekkor bimodálissá válhat az elszakadási erő eloszlása (a 2.6.(c) ábra), és egy gyenge másodlagos csúcs jelenhet meg az $f-\ln(r)$ grafikonon egy olyan egyenes mentén, amely a felső burkolóból alig látszana (a 2.6.(b) ábra).

Néhány éve Evans csoportja épp egy ilyen bimodális erőeloszlást észlelt „diC14 PE” lipideknek „C18:0/1 PC” lipid kettősrétegből való eltávolítása során [68]. Az általánosított elméletünk segítségével képesek voltak értelmezni az eredményeiket egy két-energiagátas modellel.

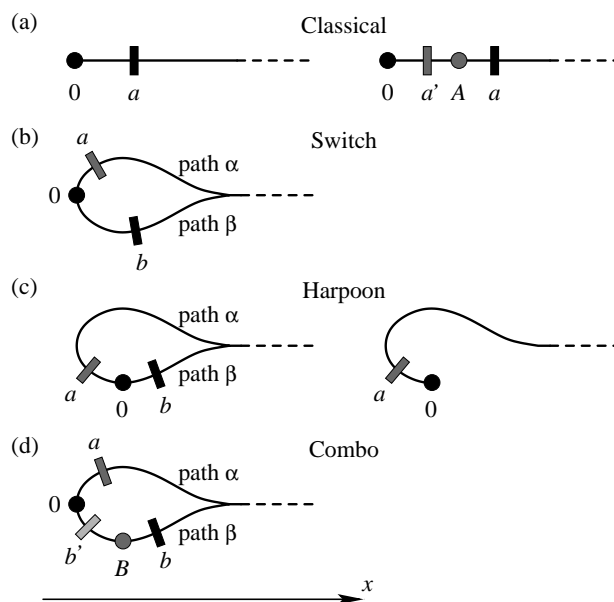


2.6. ábra. Egy bimodális erőeloszlást eredményező energiefelszín. (a) Három pillanatkép 0, 18 és 60 pN húzóerőre. (b) A szokásos $f-\ln(r)$ grafikon, ahol a körök jelölik a móduszok helyét (numerikus szimulációkból meghatározva) és a folytonos vonal a (2.24) kifejezés által adott jóslat. A betétábra szürkeshálálával mutatja a szétválási erő valószínűsége sűrűségét az r terhelési ráta különböző értékeire. (c) Ugyanez a sűrűségfüggvény $r = 3 \times 10^3$, 3×10^4 , 3×10^5 , és 3×10^6 pN/s értékeire balról jobbra. A használt paraméterek: $(\hat{x}_1, \hat{E}_1) = (0.5 \text{ nm}, 16 k_B T)$, $(x_1, E_1) = (1.1 \text{ nm}, 4 k_B T)$ és $(\hat{x}_2, \hat{E}_2) = (2.3 \text{ nm}, 24 k_B T)$.

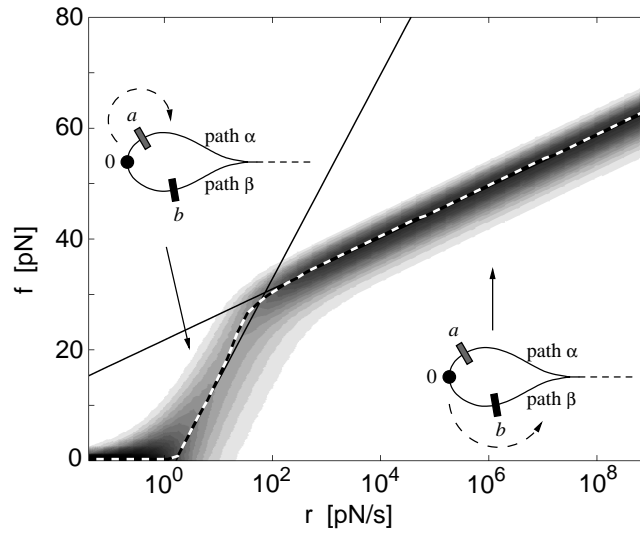
2.2. Alternatív szétválási útvonalak [T14]

Az „Előzmények” részben amellet érveltünk, hogy a szétválás/összetapadás folyamata a $3\mathcal{N}$ -dimenziós térben egy jól meghatározott útvonal köré korlátozódik. Bár ez a vizsgált rendszerek nagy részében úgy tűnik valóban így is van, elvileg elképzelhető, hogy több, egymástól lényegesen különböző útvonal mentén játszódjon le. Mivel ennek a következményei már két útvonal esetén is jelentkeznek, a 2.7. ábrán vázolt néhány egyszerűbb alapesetet vizsgáltuk meg [T14]. A célunk az volt, hogy ezen alapesetek segítségével felderítsük azokat a jellegzetességeket az $f-\ln(r)$ grafikonon, amelyek egyértelműen az alternatív útvonalak létezésére utalnak. Így ha kísérletileg felbukkannak ezek a jellegzetességek, akkor jó eséllyel lehet az alternatív útvonalakra gyanakodni, és ebben az irányban tovább folytatni a vizsgálatokat. Olyan jellegzetességeket találtunk, mint pl. csökkenő meredekségű szakaszok vagy szakadások az $f^*-\ln(r)$ görbén.

Tekintsük át a 2.7. ábrán vázolt két-útvonalas eseteket. Most azt a jelölésbeli konvenciót követjük, hogy α -val és β -val különböztetjük meg egymástól az útvonalakat.



2.7. ábra. Sematikus illusztrációja (a) a klasszikus egy-útvonalas és (b-d) a két-útvonalas szétválás alapeseteinek. Körök jelzik az energiavölgyeket (0 a kötött állapot), és téglalapok a gátakat. Minél mélyebb egy völgy, ill. magasabb egy gát, annál sötétebb.

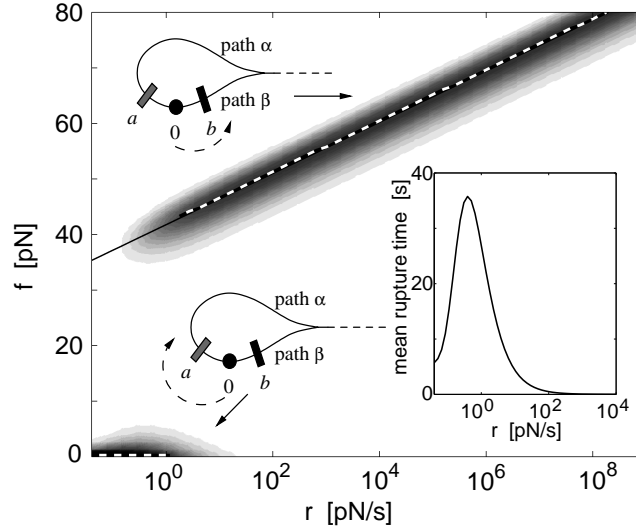


2.8. ábra. $f-\ln(r)$ grafikon a „switch” geometriára. A szürkeskála jelzi a szétválási erő valószínűségecsűrűségét az r terhelési ráta különböző értékeire (numerikus szimulációk alapján), a szaggatott vonal pedig ennek a maximuma. Vékony vonalak jelzik a két útvonalat jellemző egyeneseket. Használt paraméterek: $E_a = 20k_B T$, $x_a = 0.5$ nm, valamint $E_b = 30k_B T$, $x_b = 2$ nm.

Az α mentén elhelyezkedő gátakat és völgyeket a , ill. A betűkkel jelöljük, a β mentén pedig b , ill. B betűkkel.

A legegyszerűbb esetet „switch”-nek neveztük el. Ebben mindkét útvonal mentén mindössze egy-egy energiagát (a és b) helyezkedik el a húzás irányában. Tegyük fel, hogy a b gát magasabb az a -nál: $E_a < E_b$. Ha a b gát emellett még közelebb is lenne a kötött állapothoz, akkor az ezen való szétválást a rendszer gyakorlatilag sohasem választaná, és visszakapnánk a hagyományos egy-útvonalas esetet. Ugyanis már terheletlenül is könnyebb lenne az a gáton átjutni, húzás esetén pedig még inkább. Ha viszont $x_b > x_a$ akkor érdekesebb a helyzet. Terheletlenül persze továbbra is az a gáton könnyebb átjutni. A húzóerő növelésével azonban a távolabbi b gát gyorsabban veszít a magasságából, és egyszer csak alacsonyabbá válik az a -nál. Innentől „átkapcsol” a rendszer, és inkább a b gátat fogja választani az elszakadáshoz.

A korábbiak alapján, mindkét útvonal egy-egy egyenesnek felel meg az $f-\ln(r)$ grafikonon. Mivel most a rendszer mindig a könnyebb utat választja, azt várjuk, hogy az f^* tipikus szétválási erő e két egyenes alsó burkolójának a közelében fog haladni. Érdekes ezt összevetni az előző alfejezettel, ahol a „sorosan kötött” gátak miatt mindig a legnehezebb átmenet dominált és ezért a felső burkolót kaptuk. Jelen esetben viszont



2.9. ábra. $f-\ln(r)$ grafikon a „harpoon” geometriára. Ahogy a betétábra mutatja, az átlagos elszakadási idő kezdetben emelkedik az r terhelési ráta függvényében. Használt paraméterek: $E_a = 20k_B T$, $x_a = -2$ nm, valamint $E_b = 40k_B T$, $x_b = 2$ nm.

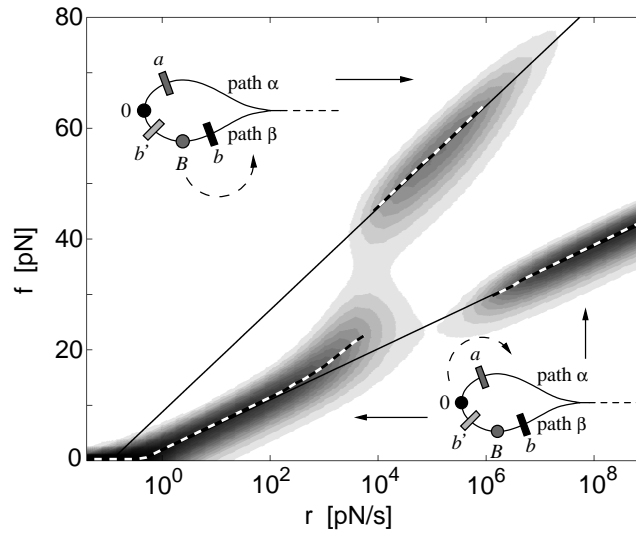
a „párhuzamos kötés” miatt a legkönnyebb átmenet dominál, és ezért kapjuk az alsó burkolót.

Hogy ezt leellenőrizzük numerikusan megoldottuk a kötött állapot $P(t)$ valószínűségének időfejlődését leíró

$$\dot{P}(t) = -\omega_0 \left[e^{(-E_a + rtx_a)/k_B T} + e^{(-E_b + rtx_b)/k_B T} \right] P(t) \quad (2.25)$$

kinetikus egyenletet (ahol most a geometriai faktorokat az egyszerűség kedvéért beolvasztottuk a gátak energiájába). Az eredmények egyértelműen igazolják a várakozásunkat. A 2.8. ábrán szürkeshálálával ábrázoltuk a szétválási erő valószínűsűrsűségét az r terhelési ráta különböző értékeire. Jól látható, hogy ennek a maximuma (szaggatott vonal) valóban szorosan követi a két egyenes alsó burkolóját. Az egyik legfontosabb üzenete ennek az alfejezetnek éppen az, hogy ha csökkenő meredekségű szakaszok tapasztalhatók egy $f^*-\ln(r)$ görbén, akkor az egyértelműen a párhuzamos folyamatok, vagyis az alternatív útvonalak jelenlétére utal.

A következő, elég különös geometria a „harpoon”. Itt az alacsonyabb, a jelű gát a húzás irányával ellentétesen helyezkedik el ($x_a < 0$). Ennek az a következménye, hogy húzás hatására az a gát nem csökkenni, hanem éppen emelkedni fog. Így amíg terheletlenül az a gáton keresztül hátrafelé indulva történik meg a szétválás, növekvő



2.10. ábra. $f-\ln(r)$ grafikon a „combo” geometriára. Használt paraméterek: $E_a = 20k_B T$, $x_a = 2$ nm, $E_{b'} = 10k_B T$, $x_{b'} = 0.5$ nm, $E_B = 5k_B T$, $x_B = 1.5$ nm, $E_b = 27k_B T$, $x_b = 2.5$ nm.

húzóerő mellett egyre nehezebb lesz ezen átjutni, és egy ponton túl már a b gát válik könnyebben átjárhatóvá. Ebből a leírásból is kitűnik, hogy olyan különleges molekuláris kötésről van itt szó, amelyet kis húzóerők stabilabbá tesznek. Tehát azokra a biológiai kötésekre, amelyeknek funkciójuknál fogva mechanikai feszültség alatt kell állniuk, érdemes ilyen jellegű energiaszint kifejtését, hogy a feszültség megszűnésével gyorsan leválhassanak és máshol újra felhasználhatók lehessenek. A cikkünk megjelenése után jutott a tudomásunkra, hogy membránok adhéziójával kapcsolatban Dembo és társai [80] már a 80-as évek végén felvetették egy ilyen kötéstípus létezésének a lehetőségét, amelyet ők „catch-bond”-nak neveztek el. Ilyen kötést azonban mind a mai napig nem sikerült minden kétséget kizáróan találni.

Ennek a kötésnek a tulajdonságait illusztrálja a 2.9. ábra. A betétábrán jól látható, hogy az átlagos elszakadási idő először valóban elkezd emelkedni. Az $f-\ln(r)$ grafikonon pedig úgy ismerhető fel ez a kötés, hogy az f^* görbének szakadása van. Tehát kis terhelési ráták esetén még jut idő az a gáton keresztüli szétválásra, nagyobb terhelési rátákra viszont az a gát hamar „lezár” és meg kell várni, hogy a b „kinyisson”.

Határesetként elképzelhetnénk, hogy a b gát végtelenül magas (vagyis olyan, mintha a β útvonal nem is létezne). Ekkor bármilyen terhelési ráta mellett is véges

lenne a valószínűsége, hogy nem szakad el a kötés. Ez azonban a valóságban nem fordulhat elő, mert előbb-utóbb akkorára nő a húzóerő, hogy valaminek valahol szakadnia kell.

Végül vessünk egy pillantást a két előző geometria kombinálásával kapható „combo” esetre. Ahogy a 2.10. ábra is illusztrálja, itt egyszerre jelentkezhetnek bimodális erőeloszlások, ill. szakadások és nemmonoton változások az $f^*-\ln(r)$ görbe mentén. Nevo és társai [75] ilyen jeleket fedeztek fel a Ran–importin rendszer vizsgálatakor, és a munkánk nyomán a kísérleti eredményeiket az alternatív útvonalak segítségével (egy combo típusú geometriával) tudták értelmezni.

Összefoglalás

A fejezetben ismertetett eredmények a következőképpen foglalhatók össze:

- A dinamikus erőspektroszkópia egy pontosabb elméleti leírását adtuk arra az esetre, amikor az adhéziós kötés elszakítása során a rendszer több egymást követő energiagáton megy keresztül. Ellentétben a korábbi elméletekkel, ez az új leírás akkor is jól használható, amikor nagy húzóerők következtében, valamelyik közbülső potenciálvölgy energiája kezdi megközelíteni a kötött állapotét (vagy akár mélyebbre is kerül).
- Megmutattuk, hogy az alternatív elszakadási útvonalak olyan jellegzetességeket eredményeznek az $f^*-\ln(r)$ görbén (pl. csökkenő meredekségű szakaszok vagy szakadások), amelyek egy útvonal estén nem tapasztalhatók. Az ilyen jellegzetességek hasznos iránymutatók lehetnek a kísérletek kiértékelésékor.

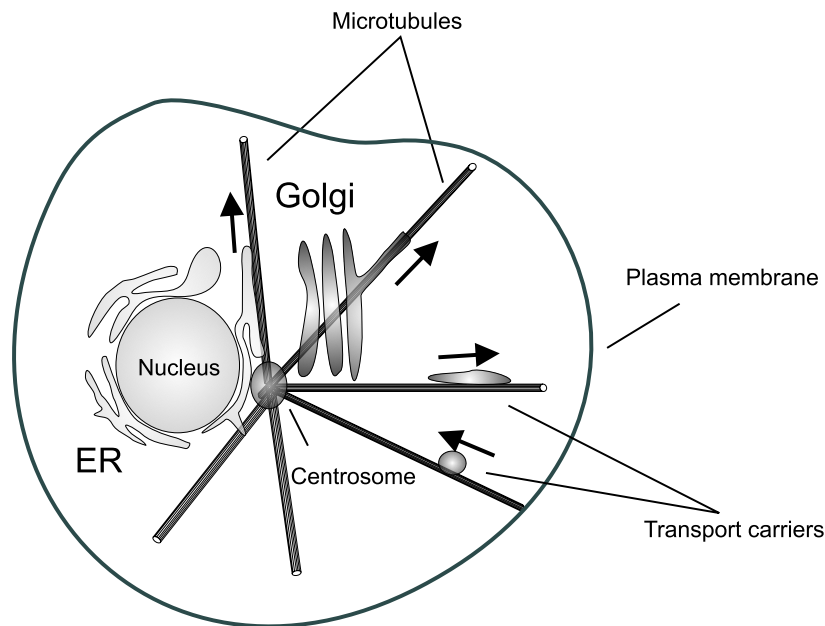
3. fejezet

Membrán nanocsövek

Előzmények

Az eukarióta sejtek mérete tipikusan a néhány mikrontól a néhányszor tíz mikronig terjed. Ez a méretskála kb. egy nagyságrenddel meghaladja a prokariótákét, és már lehetőséget biztosít arra, hogy térben is és funkcionálisan is jól elkülöníthető kompartmentumok (ezeket sejtszervecskéknek vagy organellumoknak szokás nevezni) jelenjenek meg benne. Ilyenek pl. a sejtmag (vagy nukleusz) a genetikai információ tárolására, az endoplazmatikus retikulum (röviden ER) a fehérjék és lipidek szintézisére, a Golgi-apparátus a fehérjék osztályozására, a mitokondriumok és kloroplasztiszok az energiatermelésre (pontosabban oxidatív foszforilációra, ill. fotoszintézisre). Az eukarióta sejt egy nagyon leegyszerűsített képe látható a 3.1. ábrán. Maga a sejt és benne a kompartmentumok membránnal határoltak. Ezek a membránok több száz különféle lipid keverékéből állnak, melyek egy kb. 5 nm vastag kettősréteget formálnak, ahogy a 3.2. ábra is illusztrálja. Ez a kettősréteg általában nagy számú fehérjét is tartalmaz.

A kompartmentumok általában dinamikusan változó és bonyolult topológiájú struktúrák. A formálásukban és mozgatusukban központi szerepet játszanak a motorfehérjék és a sejtváz (aktinszálak, mikrotubulusok). A sejtváz egy sűrű hálót alkot a sejt belsejében, amely úthálózatként szolgál a motorfehérjék számára. A motorfehérjék képesek megragadni a kompartmentumokat, amelyeket aztán vagy elkezdenek mozgatni a sejtben, vagy ha ellenerők lépnek fel (pl. letapadás, megakadás, ellenkező irányú húzás miatt), deformálnak. Az egyik ilyen jellegzetes deformáció a membrán nanocsövek megjelenése és növekedése, erősen lokalizált húzóerők hatására. Ezek olyan csövecskék, amelyek átmérője, ahogy a nevük is utal rá, mindössze néhányszor tíz nanométer, a hosszuk viszont akár a több mikront is elérheti.

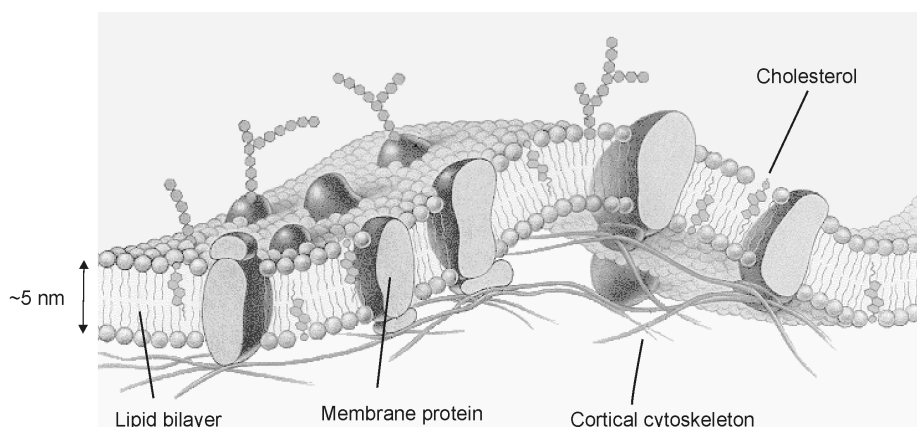


3.1. ábra. Az eukarióta sejt leegyszerűsített képe néhány főbb alkotóelemmel.

Tekintsük most át, hogy a sejtekben hol fordulnak elő a nanocsövek a leggyakrabban. Egyik legfontosabb példa az ER. Ez két részből áll: a durva ER-ből, amely lapos zsákszerű képződmények összessége és felszínét riboszómák borítják, valamint a sima ER-ből, amely egy szövényszerű nanocsőhálózatot formál. A csőhálózat szorosan illeszkedik a sejtváz mikrotubulusaihoz [81, 82], ahogy azt a 3.3. ábra is jól példázza. Ez persze nem meglepő, hiszen a csöveket elsősorban a mikrotubulusok mentén haladó kinezinek hozzák létre [83, 84]. A kinezinek blokkolásának [85] vagy a mikrotubulusok depolimerizálásának [86] hatására a csőhálózat összeomlik. Hasonló csőhálózatot sejt kivonatokban is sikerült előállítani [87, 88, 89], amely nagyban hozzájárult a folyamat megismeréséhez.

A Golgi-apparátust úgy szokták jellemezni, mint sok lapos membránzsák egymásra pakolva. Az ER-hoz hasonlóan ez is egy dinamikus átrendeződő membránstruktúra. A úgynevezett cisz oldalon folyamatosan érkeznek a csöves-veszikuláris membránképződmények az ER felől, míg a transz oldalon újabb csövek és hólyagocskák (veszikulumok) képződnek és válnak le [90, 91]. Ezekben a folyamatokban is elsősorban a mikrotubulusok mentén mozgó motorfehérjék vesznek részt.

A motorfehérjék és a sejtváz a sejten belüli transzportfolyamatokban is fontos szerepet játszanak. Sokáig úgy gondolták, hogy szállítóeszközként kis (kb. 100 nm átmérőjű) hólyagocskák szolgálnak. A legújabb fluoreszcens mikroszkópiai módszerekkel

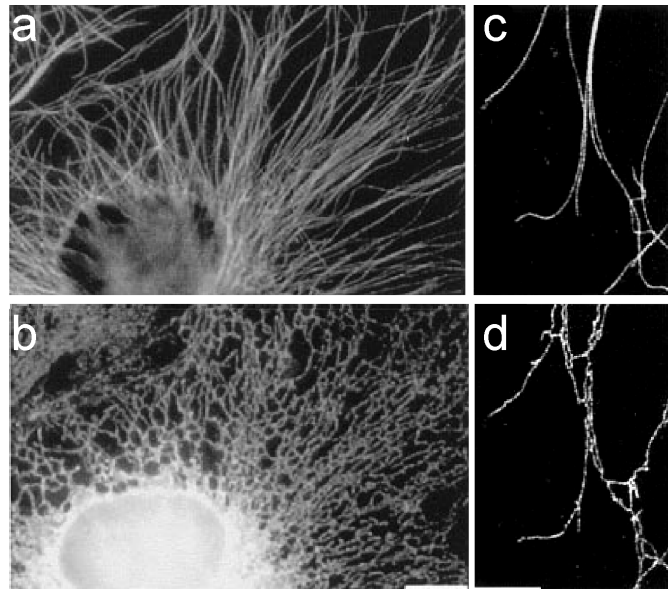


3.2. ábra. A biológiai membránokat alkotó lipid kettősréteg szerkezete, benne néhány membránfehérjével.

azonban sikerült kimutatni, hogy a transzport jelentős része történik nanocsövek segítségével [91, 92], amelyek leszakadva szabadon szállíthatókká válnak [93, 94].

Nemcsak a motorfehérjék képesek lokalizált erő kifejtésére és membráncsövek húzására. Amikor polimerizálódó filamentumok membránba ütköznek, akkor a membránt továbbnyomva szintén membráncsöveket hozhatnak létre. Míg a motorfehérjék általában csak néhány pN erő kifejtésére képesek (és emiatt gyakran több motorra van szükség egy cső kihúzásához), addig a polimerizálódó szálak ennek akár a tízszeresére is [95]. Polimerizálódó mikrotubulusok alakítják ki pl. a csillókat és mikrobolyhokat a sejthártya kifelé nyomásával. Az úgynevezett filopódiumok is a sejthártya kitüremkedései. Ezek gyorsan nőnek ki és húzódnak vissza az aktinszálak polimerizációja és depolimerizációja hatására. [2]. A sejtek között megjelenő adhézión ujjakért is az aktinszálak felelősek [96]. Alig több, mint egy éve Rustom és társainak [97] először sikerült kimutatniuk, hogy aktinszálak által létrehozott nyúlványokkal távoli sejtek (patkányból származó vesesejtek) képesek egymást elérni, ott a membránjaikat fuzionálni, majd a csövön keresztül kommunikálni. Ez a felfedezés alaposan átalakíthatja a sejtek közötti kommunikációról kialakított képünket, amelyben eddig szintén csak a hólyagocskáknak volt helyük.

A nanocsövek kialakulásának és dinamikájának megértése céljából jónéhány olyan kísérleti technikát fejlesztettek már ki, amellyel csöveket lehet kihúzni sejtek felszínéről vagy mesterséges vezikulumokból. Történetileg a membráncsövek legelső észlelése úgy történt, hogy üvegfelülethez rögzített vörösvértesteket helyeztek folyadékáramlásba [98]. Az elsodort sejtek a rögzítési pontjaikkal továbbra is kapcsolatban



3.3. ábra. Fluoreszcensen megjelölt (a) mikrotubulusok és (b) az endoplazmatikus retikulum (ER) egy élő sejtben. A kinagyított részek mutatják, hogy (d) az ER hálózata milyen szorosan illeszkedik (c) a mikrotubulusokhoz. A lépték $10\ \mu\text{m}$ (a)-ban és (b)-ben, valamint $5\ \mu\text{m}$ (c)-ben és (d)-ben. (Forrás: [81])

maradtak keskeny membráncsöveken keresztül. Ezt később több áramlásos kísérlet követte [99, T16], majd kis méretű (μm nagyságrendű) gyöngyöket kezdtek membránokhoz rögzíteni, amelyeket mechanikailag [100, 101, 102] vagy optikai és mágneses csapdákkal [103, 104, 105, 106, 107, 108, 109, T17, T18] mozgattak. Az utóbbi években már motorfehérjékkel és polimerizálódó mikrotubulusokkal is sikerült nanocsöveket előállítani mesterséges vezikulumokból [109, 110, 111, 112]. Sheetz és társai különböző típusú sejtekből húztak ki membráncsöveket, amelyeket arra használtak, hogy a membrán elasztikus tulajdonságaira következtessenek [113, 114, 115]. Orwar irányítása mellett pedig parányi vezikulumok között komplikált nanocsőhálózatokat építettek [116, 117, 118, 119, 120]. Ezek a kutatások már inkább a biotechnológiai alkalmazásokat célozzák meg: a vezikulumok különféle vegyületekkel tölthetők fel, amelyeket kis térfogaton, jól kontrollálható módon lehet egymással reakcióba hozni a nanocsöveken keresztül.

Ezek után felvetődik az a kérdés, hogy miért is alakulhatnak ki nanocsövek egyáltalán. Ha egy nagyjából sík alakú membránt megfogunk egy pontban és elkezdünk a síkra merőlegesen húzni (motorfehérjékkel, polimerizálódó filamentumokkal, mikrogöngyökkel), akkor az intuíciónk azt súgja, hogy valami kúpszerű képződményt kéne

kapnunk, nem pedig egy keskeny csövet. A válasz abban rejlik, hogy a lipid kettős-rétegek kvázi-kétdimenziós folyadékok (legalábbis a minket érdeklő biológiai körülmények között), és gyakorlatilag mindössze két elasztikus paraméter jellemzi őket: a σ felületi feszültség (amely a felület növekedését bünteti) és a κ hajlítási merevség (amely pedig a síkra merőleges hajlítást bünteti). Nyírási feszültségek pl. nem léphetnek fel egy kétdimenziós folyadékban, ellentétben a makroszkopikus világunkban jól ismert gumihártyákkal.

Hogy egy szemléletes képet kapjunk, először csak a felületi feszültségnek a felületet csökkentő hatását vegyük figyelembe. A minimális felülettel jellemzett konfigurációhoz akkor jutnánk el, amikor a membrán teljesen visszahúzódna az eredeti síkra, és a húzási ponthoz már csak egy infinitezimálisan keskeny (zérus felületet hordozó) szállal kapcsolódna. Ahogy azonban a membrán kezd ráhúzódni erre a képzeletbeli szárra (bármilyen is legyen a kiindulási konfiguráció), a görbülete egyre csak nő. Ekkor válik meghatározó szerepűvé a hajlítási merevség, amely egy ponton megállítja az összehúzódást. Az eredmény pedig egy egyenletes keresztmetszetű cső (a végeitől eltekintve), amely a sík és a húzási pont között feszül. Dimenzionális okokból következik, hogy a cső vastagsága $\sqrt{\sigma/\kappa}$ nagyságrendjébe kell, hogy essen.

Elméleti áttekintés

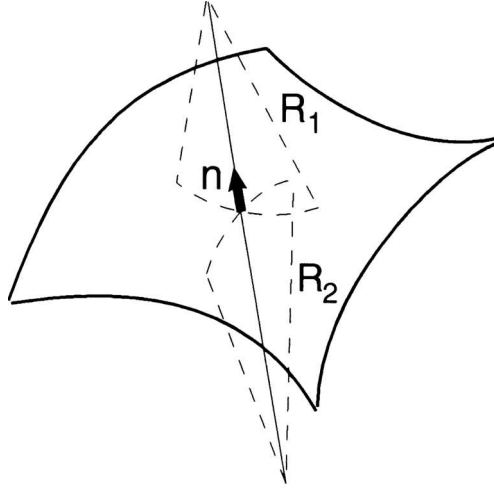
Hogy pontosan kiszámíthassuk a membrán nanocsövek R_0 sugarát és a húzásukhoz szükség f_0 erőt, valamint, hogy tanulmányozhassuk a kialakulásukat, összeolvadásukat, stb., tekintsük át a membránok elméleti leírását [121, 122], amely már több, mint három évtizedes múltra tekint vissza. A legelső leírásban [123, 124], amely spontán görbület („spontaneous curvature”, SC) modell néven vált ismertté, a membránt egy vékony hártvának tekintették, amelyet lokálisan a

$$H = \frac{1}{2}(C_1 + C_2) = \frac{1}{2} \left(\frac{1}{R_1} + \frac{1}{R_2} \right) \quad (3.1)$$

átlaggörbülettel jellemezték. Itt a 3.4. ábrának megfelelően R_1 és R_2 jelöli a két főgörbületi sugarat, a C_1 és C_2 főgörbületek pedig ezek reciprokai. A membrán energiáját, az úgynevezett Helfrich-Canham szabadenergiát, a

$$\mathcal{F}_{H-C} = \int \left[\frac{\kappa}{2} (2H - C_0)^2 \right] dA \quad (3.2)$$

definiálja, ahol κ a hajlítási merevség, a C_0 konstans a membrán spontán görbülete (amely akkor jelentkezhet, ha a lipid kettősréteg összetétele aszimmetrikus vagy ha



3.4. ábra. Egy felszín két főgörbületi sugara egy pontban, és a felület normálvektora. (Forrás: [121])

a környező folyadék a membrán két oldalán különböző), az integrál pedig végigfut a membrán teljes felületén. A membrán egyensúlyi alakját ennek a szabadenergiának a minimalizálásával kapjuk, a megfelelő határfeltételek kielégítésével. Itt érdemes megjegyezni, hogy a Gauss görbületet (ami szintén egy kvadratikuss függvénye a főgörbületeknek, lévén ezek szorzata) is a szabadenergia-sűrűséghez adhatnánk valamilyen együtthatóval. De mivel ennek a felületre vett integrálja egy topológiai invariáns (a Gauss-Bonnet tétel értelmében), nem játszana szerepet az energiaminimalizálásban.

Veszikulumok esetén pl. a felszín A nagysága és a bezárt V térfogat rögzítettnek tekinthető (A_0 és V_0). Ha ezen kívül még a veszikulumot egy pontban lerögzítjük, egy másik pontját pedig L_0 távolságra elvisszük (a z tengely mentén), akkor e két pont közötti L távolságot is adottnak kell tekinteni. Ezeket a feltételeket ($A = A_0$, $V = V_0$ és $L = L_0$) Lagrange multiplikátorokkal (σ , $-p$ és $-f$) szokás figyelembe venni, és a szabadenergiához csatolni:

$$\mathcal{F} = \mathcal{F}_{H-C} + \sigma A - pV - fL . \quad (3.3)$$

Ennek minimalizálása után a Lagrange multiplikátorokra kapott értékek fizikai jelentései a következők lesznek: σ a veszikulum felületi feszültsége; p a nyomáskülönbség a veszikulum belsejében a külvilághoz képest; valamint f a rögzítési pontokban kifejtett húzóerő.

Ha azonban a membrán felszíne nem állandó, vagy azért mert egy adott kémiai potenciálú lipidtartállyal áll kapcsolatban (ahogy sok biológiai membrán esetén [106]), vagy pedig mert a teljes vezikulumnak csak egy kis részét akarjuk leírni (ahogy a membráncsővek esetén), akkor a határokon a membrán többi részét egyetlen σ felületi feszültséggel helyettesíthetjük, és a σA egy valódi szabadenergia-járuléknak tekinthető. (Ez egyébként nem más, mint a termodinamikából jól ismert Legendre-transzformáció az egymáshoz konjugált intenzív és extenzív változók között.) Hasonlóan, ha a térfogat és távolság kényszerek helyett a konjugált mennyiségeket kontrolláljuk, akkor a $-pV$ és $-fL$ tagok is valódi szabadenergia-járulékok lesznek.

Mivel a membrán egy kettősréteg, az egyetlen hártáival történő leírás nem mindig kielégítő. A hajlítás során ugyanis az egyik lipidréteg összenyomódik, a másik pedig széthúzódik. Mivel a két réteg el tud csúszni egymás mellett, ezt a jelenséget le lehet írni egyetlen új változó (a réteg közötti ΔA felületkülönbség) bevezetésével. Ennek az előírt (ΔA_0) értéktől való eltérését egy $(\Delta A - \Delta A_0)^2$ -tel arányos taggal bünteti a rugalmas felületkülönbség („area difference elasticity”, ADE) modell [125, 126, 127]. A nanocsőeknek kis felszíne miatt azonban ennek elhanyagolható szerepe van a csővek leírásában [128], és ezért a továbbiakban nem fogjuk figyelembe venni. Mivel a legtöbb kísérletben szimmetrikus membránokkal dolgoznak, szorítkozzunk csak a $C_0 = 0$ esetre. Így tehát a membrán szabadenergiája a következőre egyszerűsödik:

$$\mathcal{F} = \int \left[\frac{\kappa}{2} (2H)^2 + \sigma \right] dA - pV - fL . \quad (3.4)$$

Megjegyzem, hogy jelenleg kutatásokat végzek a $C_0 \neq 0$ esetnek a membráncsővek dinamikájára gyakorolt hatásáról, ugyanis ez biológiai szempontból meghatározó lehet. Az első eredmények még publikálás alatt állnak, de összehasonlításuképpen be fogok mutatni egy ilyen ábrát is.

Egy hosszú cső sugarát most már könnyedén kiszámolhatjuk a szabadenergia minimalizálásával. (A csőnek azért kell a sugaránál lényegesen hosszabbnak lennie, hogy a két végének az alakját elhanyagolhassuk.) Mivel a nanocsővek nagy görbületi energiája mellett a nyomás szerepe elhanyagolható [126, 128, 129, T15] (lásd később), tegyük fel, hogy $p = 0$. A cső hossza legyen L , az ismeretlen R változó pedig a sugara. Ekkor $2H = 1/R$ behelyettesítésével, majd az integrálás helyett a $2\pi RL$ hengerfelülettel való szorzása után a szabadenergiára a következő egyszerű formula adódik:

$$\mathcal{F} = \left(\frac{\kappa}{2} \frac{1}{R} + \sigma R \right) 2\pi L - fL , \quad (3.5)$$

amelyet R szerint minimalizálva kapjuk, hogy

$$R_0 = \sqrt{\frac{\kappa}{2\sigma}} \quad (3.6)$$

a cső sugara. Ez a numerikus faktortól eltekintve valóban megegyezik a dimenzióanalízisből megbecsült értékkel. $R = R_0$ -t visszahelyettesítve a szabadenergiába az

$$\mathcal{F} = 2\pi\sqrt{2\sigma\kappa}L - fL \quad (3.7)$$

kifejezéshez jutunk. Mivel ez lineáris L -ben, a cső egyensúlyban tartásához (vagy lassú kvázisztatikus húzásához, ahogy a biológiai rendszerekben és a legtöbb kísérletben történik) egy akkora $f = f_0$ húzóerőt kell kifejtenünk, amire ez a szabadenergia éppen nulla:

$$f_0 = 2\pi\sqrt{2\sigma\kappa}. \quad (3.8)$$

Ha ugyanis nagyobb erővel húznánk, akkor a szabadenergia csökkenése érdekében a cső a végtelenségig hosszabbodna és sosem kerülhetne egyensúlyba. Kisebb erő esetén pedig visszahúzódna.

Biológiai membránokra a κ értéke a 10^{-20} – 10^{-19} J nagyságrendjébe esik, σ pedig rendszerint a 10^{-3} és 10^{-6} N/m tartományában mozog [121]. A tipikusnak mondható $\kappa \approx 4 \times 10^{-20}$ J és $\sigma \approx 5 \times 10^{-5}$ N/m választása esetén $R_0 \approx 20$ nm és $f_0 \approx 12.6$ pN értékeket kapunk. A számtalan kísérleti eredménnyel összhangban tehát a nanocsövek valóban néhányszor tíz nm vastagok, és tíz pN körüli erővel húzhatók [102, 107, 130, 131]. Ezt az erőt könnyedén ki tudja fejteni pár darab motorfehérje, vagy akár egyetlen polimerizálódó aktinfilamentum, ill. mikrotubulus is.

3.1. Csövek kialakulása [T15, T16]

Bár egy hosszú cső R_0 sugarát és a tartásához szükséges f_0 húzóerőt egyszerűen megkaptuk, a csőnek a kialakulása egy nemtriviális folyamat. J. Prost-val és F. Jülicher-rel együttműködve [T15] sikerült megmutatnunk, hogy kezdetben az erő (ahogy el is várjuk) lineárisan nő a kihúzási távolsággal, később azonban nemmonoton módon, egy maximumon való áthaladás után oszcillálva konvergál az f_0 értékhez (lásd a 3.5.(b) ábrát). Ennek fontos következménye, hogy a csőformálás egy mindent-vagy-semmit folyamat, vagyis ha a molekuláris motorok képesek ennek a maximális erőnek a kifejtésére, akkor akármeddig (értelmes határok között) nyújthatják a csövet,

ellenkező esetben viszont csak alig tudják deformálni a membránt és el sem jutnak a csőformálásig. Azt is megmutattuk még, hogy a cső végén a húzási pontban a membrán energiasűrűsége logaritmikusan divergál. Ez azt jelenti, hogy ahhoz, hogy a membrán ne sérülhessen meg ebben az energetikailag nagyon kedvezőtlen pontban, érdemes kicsit nagyobb területen húzni. Többek között ezt a célt szolgálhatják az úgynevezett burokleférék vagy a membránban előforduló merevebb lipid tutajok. Velünk egyidőben, de tőlünk teljesen függetlenül jutottak hasonló eredményre Powers és társai [129], bár az ő módszerük nem tette lehetővé az erőmaximum elérését követő oszcilláció észlelését.

A csőformálódás leírásához válasszuk a húzás irányát a koordináta-rendszer Z tengelyének, és tegyük fel, hogy a határfeltételek, és ezáltal a membrán is, forgásszimmetrikus ezen tengely körül. Konkrétan, vágjunk ki egy nagy, R_v sugarú vezikulumból egy kisebb membrándarabot egy R_{ring} sugarú kör mentén. Ezt a kört helyezzük az XY síkba, a középpontjával az origóban. Ezentúl már úgy tekinthetünk a rendszerre, mintha erre az R_{ring} sugarú gyűrűre lenne kifeszítve a membrán, adott σ felületi feszültség mellett. Hogy biztosítsuk a membrán eredeti $1/R_v$ görbületét, a nyomáskülönbséget a negatív Z oldal javára válasszuk $p = 2\sigma/R_v$ -nek. (Ez a szappanhártyák elméletéből is jól ismert Laplace nyomás, és itt azért használhatjuk, mert $R_v \gg R_0$ esetén a görbületi energiát elhanyagolhatjuk.) Végül fogjuk meg a membrán középpontját, és mozdítsuk el a Z tengely mentén a $Z = L$ pontba.

A szakirodalomban szokásos módon, a 3.5.(a) betétabráján feltüntetett $\psi(S)$ szöggel parametrizáljuk ezt a felületet az S ívhossz függvényében. Ennek következtében az $R(S)$ és $Z(S)$ koordináták így fejezhetőek ki $\psi(S)$ -vel:

$$\dot{R} = \cos \psi , \quad (3.9)$$

$$\dot{Z} = -\sin \psi , \quad (3.10)$$

ahol a pont most az S ívhossz-szerinti deriválást jelenti. Az átlaggörbület pedig így adható meg:

$$2H = \dot{\psi} + \frac{\sin \psi}{R} . \quad (3.11)$$

A feladat a határfeltételek kielégítése mellett a (3.4) szabadenergia minimalizálása. Ezt meg lehet tenni numerikusan, de a lassú konvergencia és numerikus instabilitások miatt elég pontatlan eredményt adnak (lásd Powers és társai munkáját [129]). Variációs elvek segítségével azonban (hosszadalmas, de jól dokumentált [132] és nem túl

bonyolult módon) erre a forgásszimmetrikus esetre levezethető a következő alakegyenlet [132, 133, 134, 135]:

$$\begin{aligned} \ddot{\psi} = & -\frac{1}{2}\dot{\psi}^3 - \frac{2\cos\psi}{R}\ddot{\psi} + \frac{3\sin\psi}{2R}\dot{\psi}^2 + \frac{3\cos^2\psi - 1}{2R^2}\dot{\psi} - \frac{\cos^2\psi + 1}{2R^3}\sin\psi \\ & + \frac{\sigma}{\kappa}\dot{\psi} + \frac{\sigma\sin\psi}{\kappa R} - \frac{p}{\kappa}. \end{aligned} \quad (3.12)$$

Ez az alakegyenlet a (3.9) egyenlettel kiegészítve numerikusan sokkal jobban kezelhető, mint direkt módon az energiaminimalizálás. A megoldáshoz négy határfeltétel megadása szükséges. Ez a mi esetünkben célszerű módon a gyűrű R_{ring} sugara, ott a membrán iránya, valamint görbülete, és végül membrán középpontjának L pozíciója a tengely mentén (de ezekről még később több szó fog esni). Az alakegyenlet első integrálja is levezethető [134, 135]:

$$\begin{aligned} \ddot{\psi} \cos\psi = & -\frac{1}{2}\dot{\psi}^2 \sin\psi - \frac{\cos^2\psi}{R}\dot{\psi} + \frac{\cos^2\psi + 1}{2R^2}\sin\psi \\ & + \frac{\sigma}{\kappa}\sin\psi - \frac{1}{2}\frac{p}{\kappa}R - \frac{f}{2\pi\kappa}\frac{1}{R}, \end{aligned} \quad (3.13)$$

ahol az f integrációs állandó adja meg a húzáshoz kifejtett erőt.

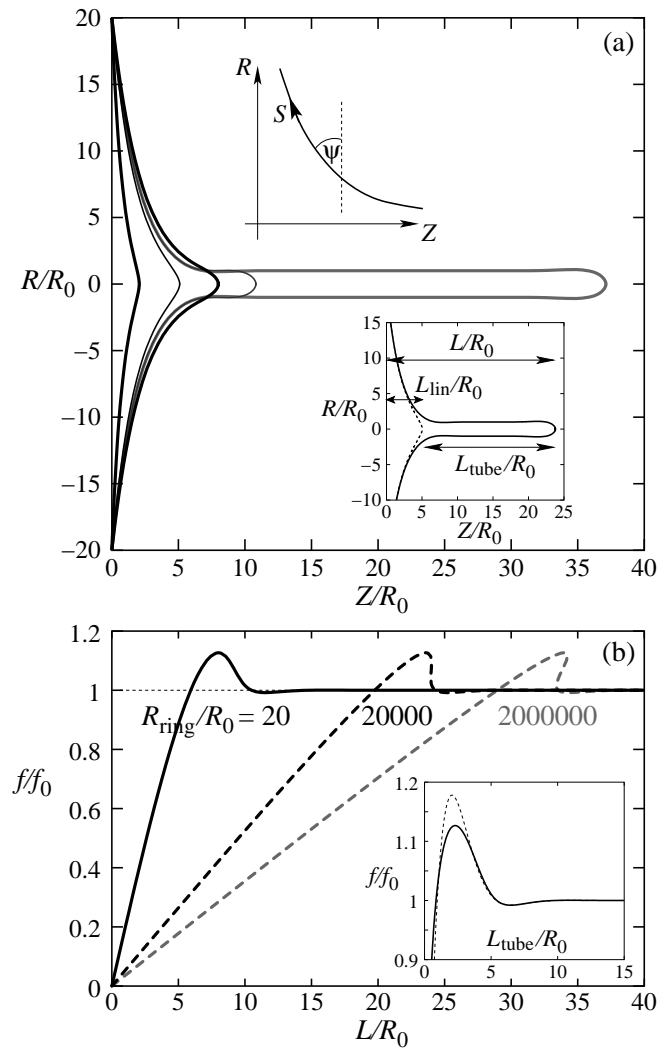
Az alakegyenlet két határesetben analitikusan is kezelhető: az egyik a sík körüli, a másik pedig a henger körüli kis kitérések esete. Az első esetben, amikor is $\psi \ll 1$, a $[\psi(S), R(S)] \rightarrow \psi(R)$ változócseré után a (3.13) egyenlet ψ -ben elsőrendig sorbafejtve így alakul:

$$R^2\psi'' + R\psi' - \left(\frac{\sigma}{\kappa}R^2 + 1\right)\psi = -\frac{f}{2\pi\kappa}R - \frac{p}{\kappa}\frac{R^3}{2}, \quad (3.14)$$

ahol a vessző természetesen az R -szerinti deriválást jelenti (ami ψ -ben elsőrendig megegyezik az S -szerinti deriválással). Ennek az inhomogén lineáris differenciálegyenletnek a megoldása:

$$\psi(R) = \frac{f}{2\pi\sigma}\frac{1}{R} + \frac{p}{2\sigma}R - \frac{f}{2\pi\sqrt{\sigma\kappa}}K_1\left(R\sqrt{\frac{\sigma}{\kappa}}\right), \quad (3.15)$$

ahol K_1 a módosított, elsőrendű, másodfajú Bessel függvény. A képlet mindhárom tagjának megvan a maga szemléletes jelentése. Kezdjük a másodikkal. Ez nem más, mint az eredeti, $R_v = 2\sigma/p$ sugarú veszikulum alakja. Mivel a p nyomásnak mindössze ez a triviális additív járuléka van, a továbbiakban nem is vesszük figyelembe, és $p = 0$ -t (vagyis $R_v = \infty$ -t) feltételezünk. Ezek után nagy R -ekre (mivel a Bessel függvény exponenciálisan tart a 0-hoz) az első tag szabja meg a membrán alakját. Ez



3.5. ábra. (a) Egy gyűrűre kifeszített membránból kialakuló nanocső alakja különböző L kihúzási távolságokra. A betétábrák definiálják a használt paramétereket. (b) Az f húzóerő függése az L kihúzási távolságtól háromféle gyűrűre. A betétábra mutatja, hogy a három görbe összeejtethető, ha L_{tube} függvényében ábrázoljuk őket. Szaggatott vonal jelzi a cső körüli sorfejtésből kapott eredményt.

láthatóan független κ -tól, és így a szappanhártyák elméletéből szintén jól ismert katenoid alakot (megforgatott cosh függvény) írja le. A κ mindössze a harmadik tagban jelenik meg. Ez kompenzálja kis R -ekre az első tag divergenciáját, és egy sapkával lekerekíti a membránt a húzási pontban. Röviden tehát, a membrán szinte mindenhol úgy viselkedik, mint egy egyszerű szappanhártya (amelynek a hajlítási merevségét el szokás hanyagolni), kivéve a húzási pont R_0 nagyságrendű környezetét (ahol maga az

ominózus nanocső is kialakul).

A (3.10) képlet értelmében, $-\psi(R)$ -t R szerint integrálva, megkapjuk végül a membrán alakját ebben a lineáris közelítésben:

$$Z_{\text{lin}}(R) = Z_0 - \frac{2R_0 f}{f_0} \left[\ln\left(\frac{R}{\sqrt{2}R_0}\right) + K_0\left(\frac{R}{\sqrt{2}R_0}\right) \right], \quad (3.16)$$

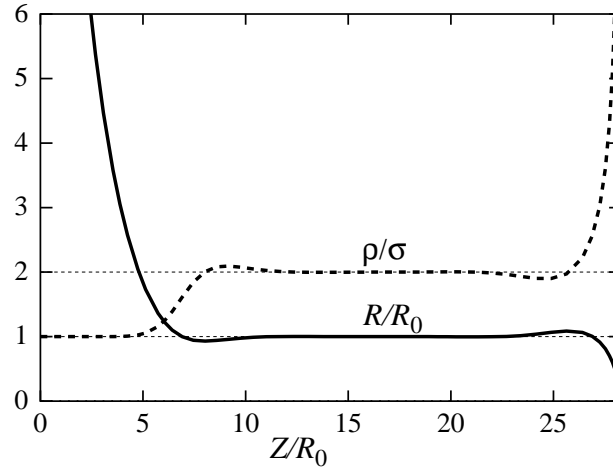
ahol a Z_0 integrációs állandót a $Z_{\text{lin}}(R_{\text{ring}}) = 0$ határfeltételhez kell igazítani, K_0 a módosított, nulladrendű, másodfajú Bessel függvény, és feltételeztük, hogy $p = 0$. (A szögletes zárójel első tagjában fel lehet ismerni az előbb említett katenoid alakot.) Ebből a formulából azonnal kifejezhető a Z irányú megnyúlás lineáris közelítése: $L_{\text{lin}} = Z_{\text{lin}}(0) - Z_{\text{lin}}(R_{\text{ring}})$, amelyből látszik, hogy kis deformációk esetén az f húzóerő és az L megnyúlás valóban lineárisan arányosak egymással. Ez a közelítés csak akkor romlik el, amikor a húzóerő értéke kezdi megközelíteni f_0 -t.

Ekkor viszont már csak numerikusan lehet az alakegyenletet megoldani. Ehhez $Z = 0$ -ban a szükséges négy kezdőfeltételt a következőképpen választottuk meg: (i) $R = R_{\text{ring}}$; (ii) ψ értékét addig változtatgattuk egyre finomabb lépésekkel, amíg a numerikus megoldással be nem sikerült találnunk a Z tengelybe; (iii) $\dot{\psi} = -(\sin \psi)/R$ -rel biztosítottuk az átlaggörbület eltűnését a gyűrű mentén; (iv) és végül $\ddot{\psi}$ értékét adott f -re a (3.13) egyenletből határoztuk meg. Az így kapott megoldások közül látható néhány a 3.5.(a) ábrán $R_{\text{ring}} = 20R_0$ esetén. Az ábra (b) részén pedig a numerikusan kimért erő-megnyúlás görbe látható háromféle gyűrűméretre. Ahogy a betét-ábra folytonos vonala mutatja, ezek a görbék összeejthetők, ha nem az L , hanem az $L_{\text{tube}} = L - L_{\text{lin}}$ függvényében ábrázoljuk őket. Ennek az az oka, hogy a csőtől távol a lineáris közelítés továbbra is érvényes. Ezért ha a cső L_{tube} hosszát úgy definiáljuk, mint a tényleges L megnyúlás és a lineáris közelítés L_{lin} jóslata közötti különbség (lásd a 3.5.(a) betétábráját), akkor így a csőtől távoli geometria, beleértve a gyűrűt is, kiesik.

A 3.5.(b) ábra jól illusztrálja a fő eredményünket, miszerint a húzóerőnek kb. 13%-kal meg kell haladnia az f_0 értékét, hogy a cső megformálódhasson. Utána viszont oszcillálva bekonvergál f_0 -hoz. Az oszcilláció ugyan nehezen vehető ki az ábrán, de analitikusan kiszámolható a (3.12) alakegyenletnek a cső körüli sorfejtéséből [136]:

$$R_0^4 U'''' = -U, \quad (3.17)$$

ahol most végrehajtottuk a $[\psi(S), Z(S)] \rightarrow \psi(Z)$ változócsere, $U(Z) = R(Z) - R_0$ -val jelöljük a cső körüli kis perturbációkat, és értelemszerűen vesszővel a Z -szerinti



3.6. ábra. Egy cső alakja felnagyítva a sugár irányában (folytonos vonal), valamint a felületi szabadenergia-sűrűség (szaggatott vonal).

deriválást. Ennek a megoldása, a cső két vége felől exponenciálisan csillapodó oszcillációk összege:

$$\begin{aligned} \frac{U(Z)}{R_0} = & a_1 \exp\left(-\frac{Z - L_{\text{lin}}}{\sqrt{2}R_0}\right) \cos\left(\frac{Z - L_{\text{lin}}}{\sqrt{2}R_0} + \alpha_1\right) \\ & + a_2 \exp\left(-\frac{L - Z}{\sqrt{2}R_0}\right) \cos\left(\frac{L - Z}{\sqrt{2}R_0} + \alpha_2\right), \end{aligned} \quad (3.18)$$

ahol hosszú cső esetén az integrációs állandók az $a_1 \approx 0.746$, $a_2 \approx 0.726$, $\alpha_1 \approx 0.347$, valamint $\alpha_2 \approx 3.691$ értéket veszik fel. Ezeket a numerikusan kapott megoldáshoz való illesztésből határoztuk meg. Az oszcillációk első periódusai jól láthatók a sugár irányában felnagyított cső alakján a 3.6. ábrán.

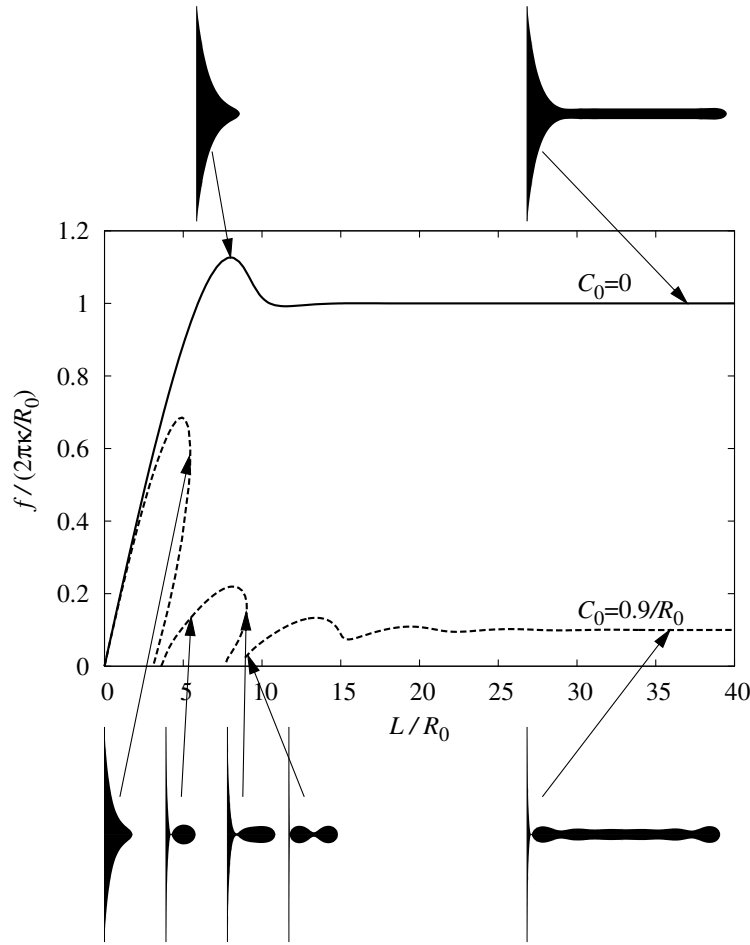
A (3.13) egyenlet sorfejtéséből (U legalacsonyabb el nem tűnő rendjéig) pedig kifejezhetjük a húzóerőt:

$$\frac{f - f_0}{f_0} = R_0^2 U' U''' - \frac{1}{2} R_0^2 U''^2 + \frac{1}{2} \frac{1}{R_0^2} U^2. \quad (3.19)$$

Behelyettesítve a (3.18) megoldást ebbe az egyenletbe kapjuk, hogy

$$\frac{f - f_0}{f_0} = 2a_1 a_2 \exp\left(-\frac{L_{\text{tube}}}{\sqrt{2}R_0}\right) \cos\left(\frac{L_{\text{tube}}}{\sqrt{2}R_0} + \alpha_1 + \alpha_2\right), \quad (3.20)$$

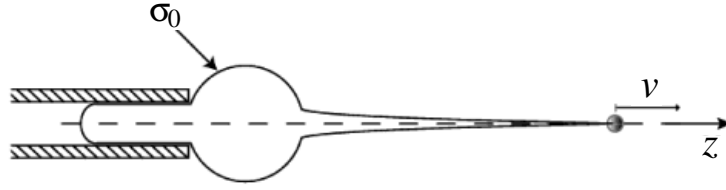
amely valóban egy exponenciálisan csillapodó oszcilláció f_0 körül az L_{tube} függvényében. Ahogy a 3.5.(b) betéttábrájából kiderül, ez a függvény (szaggatott vonal) a legnagyobb púp kivételével jól közelíti a numerikus megoldást (folytonos vonal).



3.7. ábra. Az f húzóerő függése az L kihúzási távolságtól $C_0 = 0$ és $C_0 = 0.9/R_0$ esetén, valamint a „nanocső” alakja különböző pontokban.

Összehasonlításképpen, a részletek ismertetése nélkül, a 3.7. ábrán bemutatom, hogy milyen egzotikus viselkedés várható, ha a C_0 spontán görbület nem nulla, és kezdi megközelíteni a kritikus $1/R_0$ értéket. Efölött már stabil cső sem létezhet tovább, és a membrán húzásával újabb és újabb hólyagocskák válnak le. Meglátásom szerint ennek a jelenségnek komoly biológiai szerepe lehet.

A (3.15) lineáris közelítő formulának egy érdekes tulajdonsága, hogy az $R \rightarrow 0$ határesetben $\psi \rightarrow 0$, ahogy el is várjuk, ψ' viszont $\ln(R)$ -el divergál. Mivel a lineáris közelítés érvényes marad a húzási pont közelében (ahol $\psi \ll 0$) a cső megjelenése után is, ez a divergencia mindvégig kifejti hatását. Ennek az a súlyos következménye, hogy az átlaggörbület, és így a ρ szabadenergia-sűrűség (ami definíció szerint a felü-

3.8. ábra. A nanocső alakja, ha nagy v sebességgel húzzuk ki.

letegységre eső szabadenergia) is divergál a húzási pontban (lásd a 3.6. ábrán). Ennek a viszonylag gyenge logaritmikus divergenciának ugyan határt szab a lipidek mérete, de becsléseink szerint így is egy nagyságrenddel megnőhet itt az energiasűrűség, és ezáltal sérülékennyé válhat a membrán. Biológiai rendszerek ez ellen úgy védekezhetnek, hogy nagyobb területre szétosztják a húzóerőt, burokkéféjék vagy lipid tutajok segítségével. Már önmagában az is sokat enyhít a problémán, hogy a csövek húzásához általában több motorféjére van szükség, melyek különböző lipid molekulákhoz kapcsolódnak.

F. Brochard-Wyart laborjával együttműködve vizsgáltuk a nanocsövek húzása során fellépő hidrodinamikai effektusokat [T16]. Ha pl. nagy v sebességgel húzzuk a membránt, akkor a cső tövétől a hegye felé haladva egyre nagyobb $f(Z)$ erőt kell tapasztalnunk, hogy a cső a töve felé eső szakaszt magával tudja vonszolni. Nagyobb erő pedig nagyobb $\sigma(Z)$ felületi feszültséget és ezáltal kisebb $R(Z)$ sugarat eredményez a (3.8) és (3.6) képletek alapján, ahogy ezt a 3.8. ábra illusztrálja.

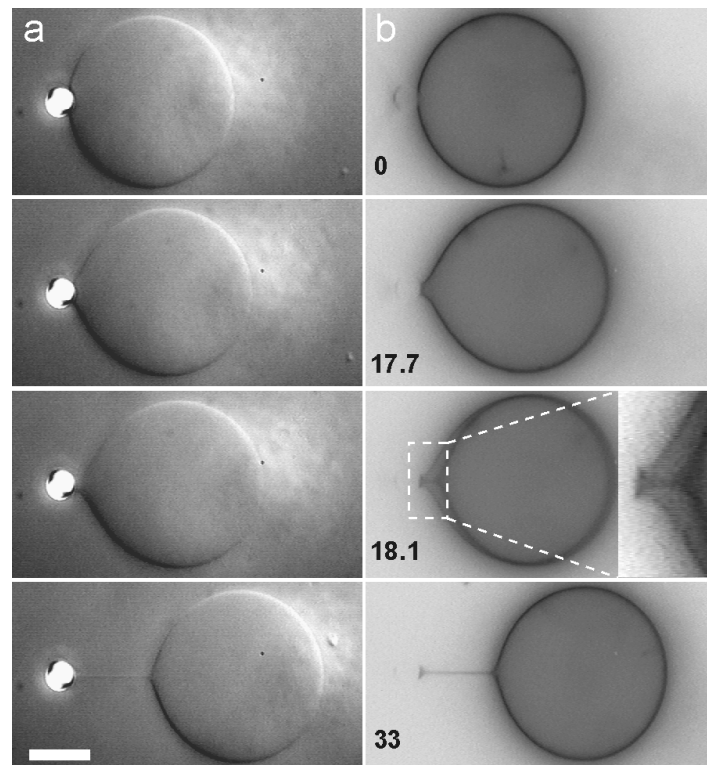
Hogy megbecsüljük milyen v_{crit} sebességnél válik a súrlódás számottevővé, tegyük egyenlővé az f_0 húzóerőt az L hosszúságú R_0 sugarú v_{crit} sebességgel mozgó hengerre ható súrlódási erővel:

$$f_0 = v_{\text{crit}} L \frac{4\pi\eta}{\ln(L/R_0) - 0.5} , \quad (3.21)$$

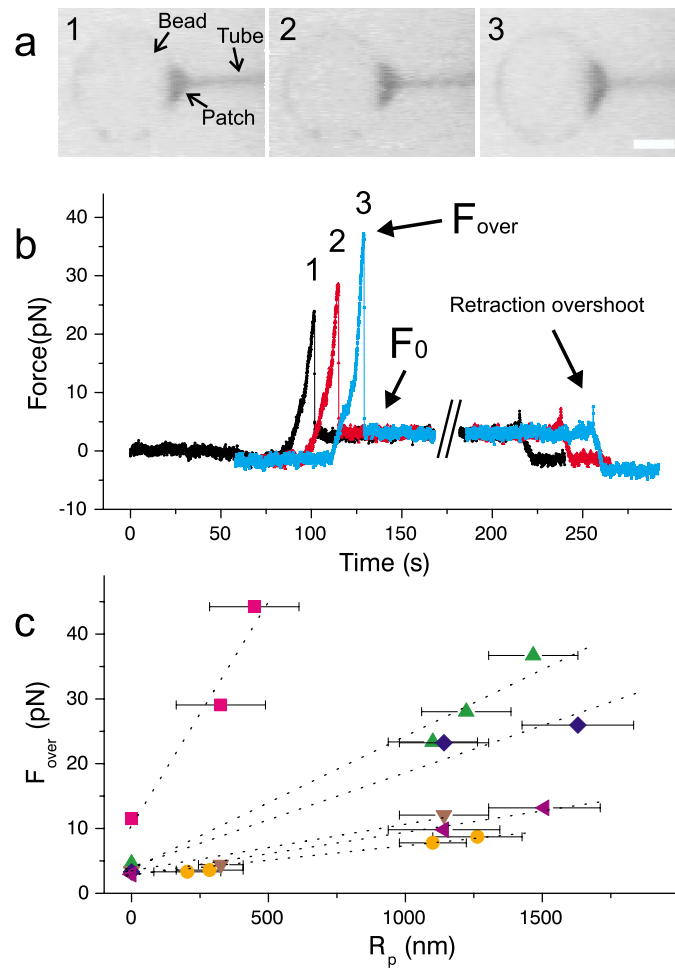
ahol $\eta \approx 10^{-3}$ kg/s/m a víz viszkozitása. Behelyettesítve az $R_0 \approx 20$ nm és $f_0 \approx 12.6$ pN tipikus értékeket, valamint az eukarióta sejtek $10 \mu\text{m}$ -es méretével felülről becsülve a cső L hosszát, azt kajak, hogy $v_{\text{crit}} \approx 20 \mu\text{m/s}$. Azonban még a leggyorsabb motorféjék is csak $1 \mu\text{m/s}$ sebességgel képesek haladni, úgyhogy biológiai szempontból a súrlódás elhanyagolható a cső húzása során. Arra viszont rámutat ez a kis számolás, hogy ha a motorok eleresztik a csövet, akkor az nagyon gyorsan, a biológiai membránok dinamikájának időskáláján szinte azonnal visszahúzódik. Ez egyébként gyakran észlelhető a kísérletek során is.

3.2. Csőhúzás nagyobb felületen [T17]

M. Dogterom csoportjában membráncsövek húzásával kapcsolatban végeztek kísérleteket. Olyan vezikulumokat készítettek, amelyekben a lipidek egy részéhez biotin volt kapcsolva, a csövek húzására pedig olyan mikrogöngyöt használtak, amelyet előzőleg streptavidinnel vontak be. A göngyöt optikai csipesz segítségével megfogva egy vezikulumhoz érintették, melyek az előző fejezetből megismert biotin–streptavidin adhézios kötések kialakulásával egymáshoz tapadtak. Ahogy a göngyöt egy állandó sebességgel távolították a vezikulumtól az optikai csipesszel, létrejött köztük egy membráncső. Ezt a folyamatot mutatja be a 3.9. ábra. Az optikai csipesz kiválóan alkalmas erő mérésre is, így mérni tudták hogyan változik a húzóerő, miközben a göngyöt többször is eltávolították, majd visszavitték a vezikulum közelébe. Ahogy a 3.10.(b) ábra mutatja, csőformálódáskor az erő nagyon magasra felment, majd onnan zuhant vissza az f_0 értékre. Hasonló jelenséget figyeltek meg Hotani és társai is, akik



3.9. ábra. Nanocső formálása mikrogöngy segítségével négy különböző időpillanatban kétféle mikroszkópiás eljárással: (a) DIC (differential interference contrast) és (b) ICF (inverted contrast fluorescence). Az időskála másodperces, a lépték pedig $10\ \mu\text{m}$.



3.10. ábra. (a) A mikrogöngy és a membrán tapadása. (b) A húzóerő az idő függvényében, a nanocső kihúzása majd visszaeresztése során, a kísérlet három egymás utáni megismétlésére. (c) A maximális húzóerő a tapadási felület sugarának függvényében sok kísérletre. Az azonos szimbólumok egyazon kísérlet többszöri megismétlését jelentik, a pontozott vonalak pedig az ezekre illesztett egyenesek.

egy vezikulum belsejébe zárt göngy húzásával hoztak létre nanocsöveket [108, 137]. Az erő maximumális értéke láthatóan sokkal nagyobb, mint azt az előző alfejezetben jósoltuk. Ennek egyértelműen az az oka, hogy a göngy nem egy erősen lokalizált területen húzza a membránt, hanem a cső R_0 sugaránál is jóval nagyobb tapadási felületen, ahogy ez a 3.10.(a) ábra felvételein is látszik. Ráadásul az ismételt kihúzások során a tapadási felület egyre csak nő, így a húzóerő is egyre magasabb értékekig jut fel.

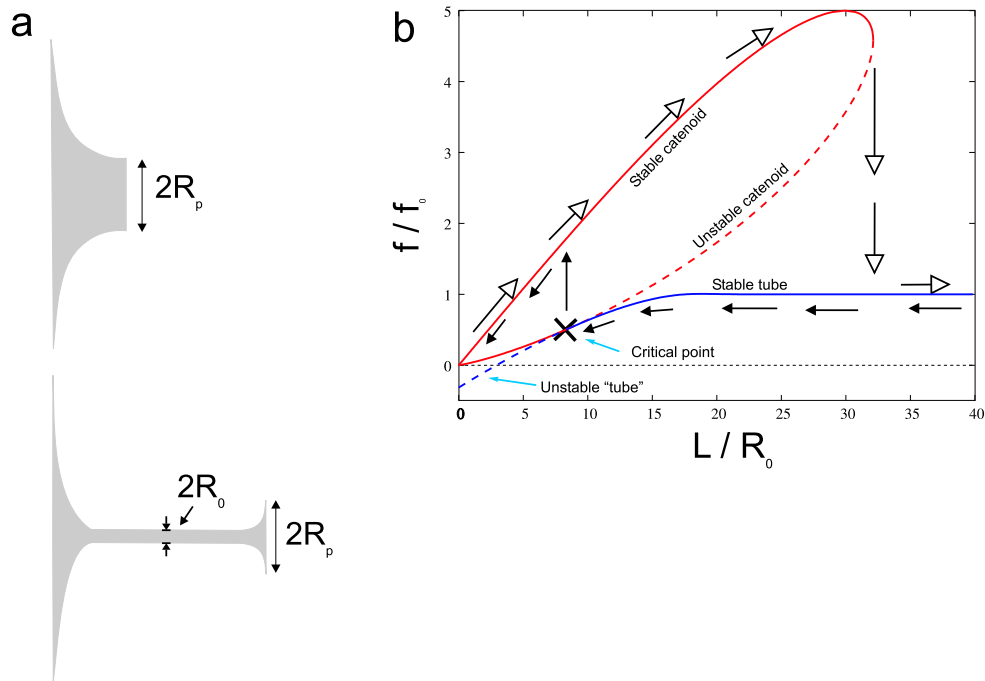
Ennek a jelenségnek a pontosabb értelmezése céljából fordultak hozzám segítségért, aminek eredményeképpen született a [T17] közös publikációnk. A megértést az a felismerés teszi egyszerűvé, hogy a membrán κ hajlítási merevsége csak az R_0 méretskála közelében játszik jelentős szerepet. Ez látható a (3.15) és (3.16) egyenletekben is. Mivel a kísérletekben a tapadási felület R_p sugara (feltételezve, hogy a folt körszerű) lényegesen nagyobb R_0 -nál, κ -t el lehet hanyagolni, és így a membrán egy szappanhártyához hasonlóan fog viselkedni. Ha tehát egy σ felületi feszültségű szappanhártyát R_p sugarú körlap mentén húzunk, akkor a lap és a hártya által bezárt szög függvényében maximum $f_{\text{over}} = 2\pi R_p \sigma$ erőt érhetünk el. Kicsit tovább húzva a lapot, egy igazi szappanhártya elszakadna, a mi membránunk viszont összeesik egy keskeny nanocsővé, ahogy a 3.11.(a) ábra illusztrálja. A lényeg tehát, hogy ha f_{over} -t összevetjük f_0 -val:

$$\frac{f_{\text{over}}}{f_0} = \frac{1}{2} \frac{R_p}{R_0}, \quad (3.22)$$

akkor valóban jól látszik, hogy a maximális f_{over} húzóerő az f_0 többszörösét is elérheti. A maximumnak az R_p -től való lineáris függését szépen igazolják a 3.10.(c) ábra adatai. További kísérleti igazolást jelent, hogy R_p és f_{over} értékeiből kiszámolhatjuk σ -t, majd κ ismeretében f_0 -t is, amely nagyon jól egybeesik az optikai csipesszel kimért f_0 -val.

A történetnek azonban itt még nincs teljesen vége. A jelenség részletesebb vizsgálata érdekében ismét a (3.12) alakegyenlet numerikus megoldásához folyamodtam, csak most határfeltételként azt választottam, hogy egy nagy, R_{ring} sugarú gyűrűről indulva a görbe az R_p sugarú körlapot nulla görbülettel érje el. Ily módon a teljes $f-L$ kapcsolatot sikerült feltárnom. Ahogy azt a 3.11.(b) ábra illusztrálja $R_{\text{ring}} = 100R_0$ és $R_p = 10R_0$ választása esetén, húzáskor egy katenoid formálódik, amely a maximális erő elérése után nem sokkal összeesik egy nanocsővé (nyitott hegyű nyilak). Visszafele haladva azonban a cső még sokáig megmarad, és csak jóval később ugrik vissza a katenoidra (zárt hegyű nyilak). Ez a hiszterézis egyértelműen egy elsőrendű alakváltozásra utal. A kisméretű ugrás a gyöngy visszafelé mozgása során a kísérletekben is jól megfigyelhető volt (lásd a 3.10.(b) ábrán).

Ezzel tehát sikerült részletekbemenőig megértenünk a nagyobb tapadási felület segítségével történő csőhúzás jelenségét. Ilyen folyamatok minden bizonnyal biológiai körülmények között is lejátszódnak, pl. ha nagyobb fehérjeburokkal fedett területen történik a húzás, vagy ha egy nagyobb területen letapadt sejt elmozdul. Ezen kívül a

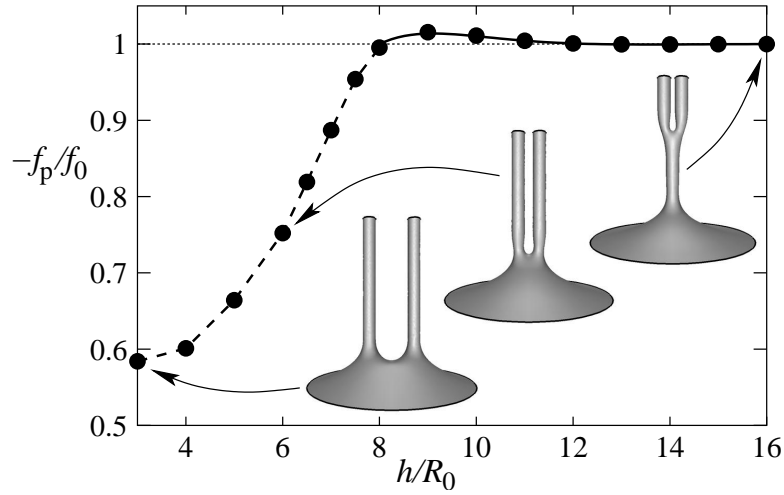


3.11. ábra. (a) Sematikus ábra a membrán alakjáról a maximális erő kifejtésekor, lent pedig a nanocsővé való összeesés után. (b) Elméleti és numerikus eredmények az erő-megnyúlás összefüggésről $R_{\text{ring}} = 100R_0$ és $R_p = 10R_0$ esetén.

kísérletekkel való kiváló egyezés egyben alá is támasztja a membrán leírására használt modellünket. Még egy fontos következménye a folyamat kvantitatív megértésének az, hogy néhány paraméter megméréseivel jóslásokat tehetünk a többi paraméterre. Például ha κ ismeretében kimérjük f_0 -t és f_{over} -t, akkor ebből azonnal kiszámolhatjuk σ -t is, R_0 -t is, valamint R_p -t is.

3.3. Csövek összeolvadása [T15, T18]

Ahogy korábban már láttuk, a nanocsövekből egészen bonyolult hálózatok is ki tudnak alakulni (az ER esetén pl. lásd a 3.3. ábrát). Ez első pillanatra azért meglepő, mert ha ugyanabból a membránból egymás mellett két csövet is kihúzunk azonos irányban, akkor energetikailag sokkal kedvezőbb, ha a tövüknél fogva összeolvadnak. Ennek egyszerűen az az oka, hogy a csövek hosszegységként f_0 energiát tárolnak, összeolvadva pedig lecsökken az összhosszuk.

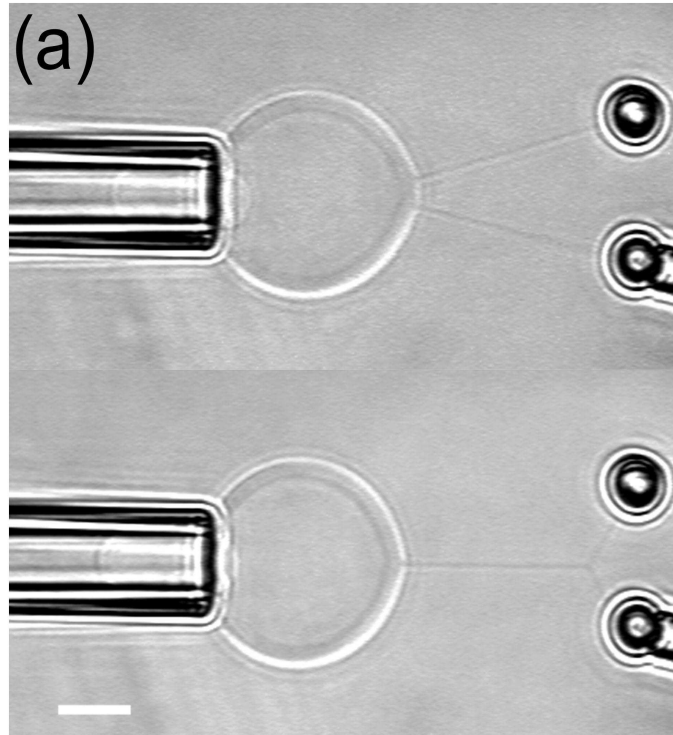


3.12. ábra. Numerikus energiaminimalizálásból kapott eredmények a membrán közepét rögzítő f_p erőre a rögzítési pont h magasságának függvényeként két cső kihúzása esetén; valamint a membrán alakja három pontban.

Ezért tehát megvizsgáltam, hogy két cső hogyan hat kölcsön egymással. Ha R_0 -nál lényegesen messzebb vannak egymástól, akkor egyszerűen belátható [T15, T18] (a részleteket lásd később), hogy vonzzák egymást. Ezek után még mindig előfordulhatna, hogy egymás közelébe érve egy magas energiagát akadályozná meg az összeolvadást. Hogy ezt megvizsgálhassam, numerikus energiaminimalizálást végeztem a *Surface Evolver* nevű program segítségével [138]. Két cső esetén ugyanis már sérül a forgásszimmetria és nem használhatók az alakegyenletek.

A konkrét elrendezés a következő volt. Ahogy a 3.12. ábra mutatja, egy gyűrűre kifeszített membránból két csövet húztam ki a Z irányban, a membrán közepét pedig h magasságban rögzítettem, és mértem, hogy ehhez mekkora f_p rögzítőerőt kell kifejteni. Mint kiderült, tetszőleges h -ra negatív ez az erő, vagyis a membrán folyamatosan előre felé nyomja a rögzítési pontot. Így ha a rögzítést megszüntetnénk, akadály nélkül végbemenne a csövek összeolvadása. Az ábráról az is leolvasható, hogy ha már elég előrehaladott az összeolvadás (jobb oldali betétábra), akkor a rögzítőerőnek $f_p = -f_0$ -nak kell lennie, hiszen az elágazási pontban két csövet kell kiegyensúlyozni lefelé, de csak egyet felfelé.

Hogy a sejtekben mégsem olvadnak össze a csövek, annak az az egyszerű magyarázata, hogy jelen van egy nagyon sűrű sejtvázs is, amely szinte teljesen megakadályozza a csövek keresztirányú mozgását és a elágazási pontok elcsúszását. Mesterséges rendszerekben azonban valóban bekövetkezik az összeolvadás [116, 120, T18].



3.13. ábra. Két membrán nanocső összeolvadását megelőző és azt követő videokép. Bal oldalon látható a mikropipetta, középen a membrán vezikulum, jobb oldalon pedig a mikrogöngyök. A vezikulum és a mikrogöngyök között feszülnek a nanocsövek. A lépték $5\ \mu\text{m}$.

P. Nassoy csoportja is két cső összeolvadásának a dinamikáját tanulmányozta a következő kísérleti elrendezésben. A 3.13. ábrán látható módon mikropipetta segítségével fogtak meg egy membrán vezikulumot, és szabályozták a σ felületi feszültséget. Ez egy standard módja a felületi feszültség szabályozásának, hiszen az R_{pipette} belső sugarú pipettában Δp -vel lecsökkentve a nyomást, a vezikulum addig kúszik be, amíg a felületi feszültsége akkorára nem nő, hogy már a nyomáskülönbséget képes ellensúlyozni a pipettában lévő gömbsüveg $2\sigma/R_{\text{pipette}}$ Laplace nyomása. Ezután két mikrogöngyöt is megfogtak (az alsót mikrotűvel, a felsőt optikai csipesszel), és a vezikulumhoz érintették. Az előző alfejezet kísérletéhez hasonlóan itt is biotin-streptavidin adhézión kötésekkkel tapadtak a göngyök a membránhoz. A vezikulum távolítása során létrejött két nanocső, de ezek nem olvadtak össze, mert különböző irányokban álltak. A vezikulum további távolításával a nanocsövek által bezárt szög egyre csökkent, majd hirtelen, egy kritikus szög elérésekor, jól reprodukálható módon,

a csövek összeolvadtak. Egy ilyen összeolvadást megelőző és azt követő videokép látható a 3.13. ábrán.

Az összeolvadás jelenségével kapcsolatos korábbi munkám miatt fordultak hozzám, hogy értelmezni és kvantifikálni tudjuk ezt a jelenséget. Ehhez először azt kell megértenünk, hogy miként is érzékeli egymást két távoli nanocső. Ha van egy nanocsövünk, akkor az a tövétől $R \gg R_0$ távolságban úgy deformálja a membránt, hogy a (3.15) egyenlet első tagjának megfelelően ($f = f_0$ helyettesítéssel),

$$\Delta\psi(R) \approx \frac{2R_0}{R} \quad (3.23)$$

értékkel megváltoztatja a membrán eredeti dőlésszögét.

Ez egyébként egy R_v sugarú, gömb alakú vezikulumra az alakegyenlet sorfejtése nélkül is könnyen megmutatható. Mindössze a vezikulum egy tetszőleges, $R \gg R_0$ sugarú, és a nanocsőre merőleges keresztmetszetére ható erők egyensúlyát kell felírunk. Egy ilyen membrándarabra kifelé hat ugyanis az $f_0 \equiv 4R_0\pi\sigma$ erő a cső miatt, valamint az $R^2\pi$ felületet terhelő $\sigma 2/R_v$ Laplace nyomás. Visszafelé húzza viszont a felületi feszültség által a peremre kifejtett $2R\pi\sigma \sin[\psi(R)]$ nagyságú erő. Ezek egyensúlya vezet a

$$2R\pi\sigma \sin[\psi(R)] = 4R_0\pi\sigma + \frac{2R^2\pi\sigma}{R_v} \quad (3.24)$$

egyenlethez, melyet Bozic és társai is levezettek [135]. Kis ψ szögekre visszakapjuk a

$$\psi(R) \approx \frac{2R_0}{R} + \frac{R}{R_v} \quad (3.25)$$

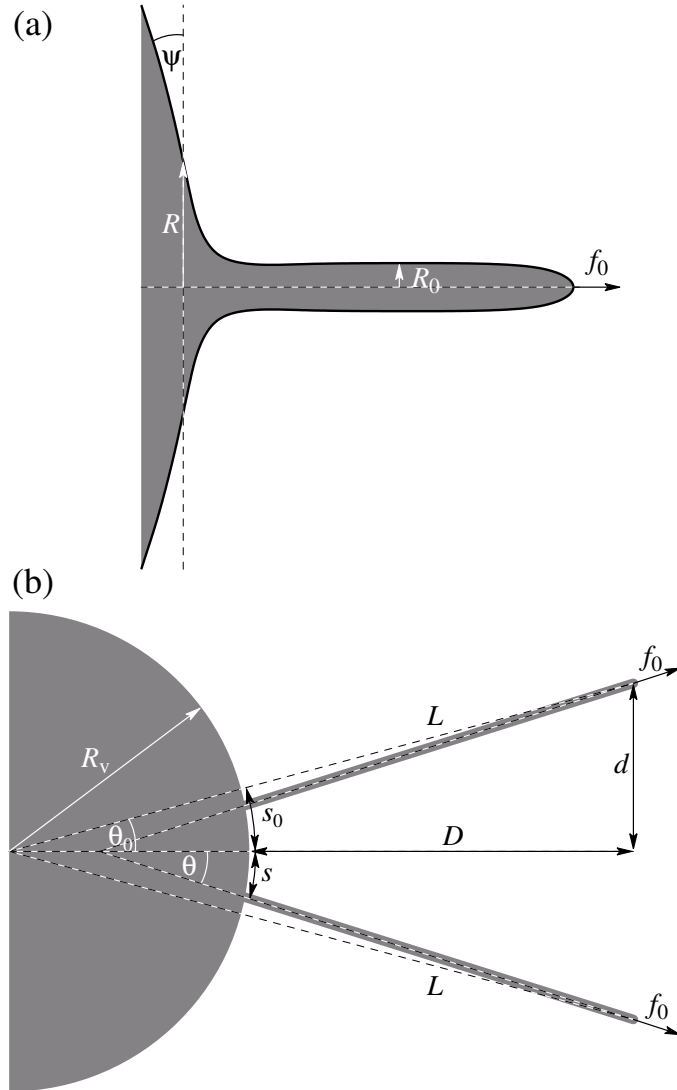
közelítést, ahol a második tag felel meg az eredeti gömbnek, az első pedig valóban a membrán dőlésszögének $\Delta\psi(R)$ megváltozása a nanocső következtében.

A nanocső stabilitásának egyik szükséges feltétele az, hogy merőlegesen álljon arra a felületre, ahonnan kihúzzuk. Máskülönben a töve elmozdul abba az irányba, amerre a legkisebb szöget zárja be a felülettel, hogy így csökkentse a hosszát. Ezért ha a két cső nem hatna kölcsön egymással, akkor mindegyik egyszerűen radiális irányban állna, az általuk bezárt szög fele

$$\theta_0 = \arctan\left(\frac{d}{R_v + D}\right) \quad (3.26)$$

lenne, a tövük közötti távolság fele pedig

$$s_0 = R_v\theta_0. \quad (3.27)$$



3.14. ábra. Sematikus ábra (a) egy nanocsőről, valamint (b) egy fél vezikulumról két nanocsővel, a szövegben használt jelölések definiálására.

Az itt és a következőkben használt jelöléseket a 3.14. ábra definiálja.

Mivel azonban a membránt az egyik cső tövéénél a másik cső kicsit megbillenti, a csövek közelebb mozdulnak egymáshoz. $2s$ távolságban ez a megbillentés

$$\Delta\psi_1 \approx \Delta\psi(2s) \approx \frac{R_0}{s}. \quad (3.28)$$

Azonban ahogy a csövek közelítik egymást, egyre inkább kitérnek az eredeti radiális

irányból, aminek következtében a felülettel bezárt szögük

$$\Delta\psi_2 \approx \frac{s_0 - s}{R_v} + \frac{s_0 - s}{L} = \frac{s_0 - s}{R_v^{\text{eff}}} \quad (3.29)$$

értékkel változik meg, csak éppen $\Delta\psi_1$ -gyel ellentétes irányban. Az R_v^{eff} jelölést a $1/R_v^{\text{eff}} = 1/R_v + 1/L$ definiálja. A csövek tehát ott állnak meg, ahol a két szögváltozás kiegyenlíti egymást, $\Delta\psi_1 = \Delta\psi_2$, vagyis ahol merőlegesek lesznek a felszínre. A (3.28) és (3.29) egyenletek behelyettesítésével ebből azt kapjuk, hogy

$$s^2 - s_0 s + R_0 R_v^{\text{eff}} = 0. \quad (3.30)$$

Ennek a másodfokú egyenletnek akkor van megoldása, ha az $s_0^2 - 4R_0 R_v^{\text{eff}}$ diszkrimináns nemnegatív. Ahogy azonban a vezikulum távolodik a gyöngyöktől, és a $\theta_0 \equiv s_0/R_v$ félszög a gyöngyöket a vezikulum középpontjával összekötő egyenesek között fokozatosan csökken, a diszkrimináns egyszer csak eléri a nullát. Ekkor a két cső szükségszerűen összeolvad, mert az (3.30) egyenletnek tovább már nem lesz megoldása. Ebből azonnal adódik, hogy az összeolvadás a

$$\theta_{0,c} \equiv \frac{s_{0,c}}{R_v} = 2 \frac{\sqrt{R_0 R_v^{\text{eff}}}}{R_v} = 2 \sqrt{\frac{R_0}{R_v(1 + R_v/L)}}, \quad (3.31)$$

kritikus szögnél következik be.

Ez a jelenség lehetőséget nyújt arra, hogy meghatározzuk a csövek sugarát a kritikus $\theta_{0,c}$ szög megmérésével:

$$R_0 = \theta_{0,c}^2 R_v \frac{1 + R_v/L}{4}, \quad (3.32)$$

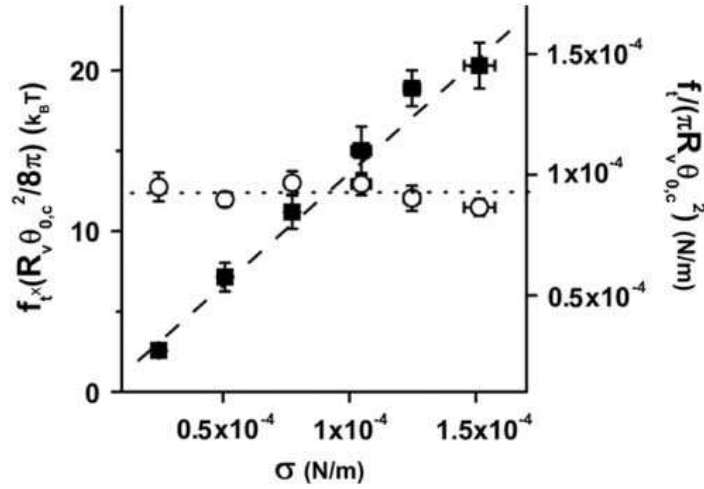
amelyet más módszerekkel nagyon nehéz megtenni. Továbbá, mivel az optikai csipesz segítségével f_0 -t is mérni tudjuk, egyszerre meghatározhatjuk mind a hajlítási merevséget:

$$\kappa = \frac{f_0 R_0}{2\pi} = f_0 \theta_{0,c}^2 R_v (1 + R_v/L) \frac{1}{8\pi}, \quad (3.33)$$

mind pedig a felületi feszültségét:

$$\sigma = \frac{f_0}{4\pi R_0} = \frac{f_0}{\theta_{0,c}^2 R_v (1 + R_v/L)} \frac{1}{\pi} \quad (3.34)$$

a membránnak. Mivel a kísérletekben κ -t ismertük, σ -t pedig magunk szabályoztuk, direkt módon le tudtuk ellenőrizni az eredményeink helyességét. Ahogy a 3.15. ábra is



3.15. ábra. Az elmélet által jószolt értékek κ -ra (üres körök) és σ -ra (teli négyzetek), σ különböző értékeire. A kísérletekben használt membrán κ -jára más mérések is $12k_B T$ körüli értéket adnak. A σ -ra kapott jóslat szépen követi a 45° -os egyenest. Megj.: a tengelyeken feltüntetett R_v már tartalmazza az $(1 + R_v/L)$ geometriai faktort.

igazolja, nagy pontossággal sikerült visszakapnunk mindkét paramétert, σ különböző értékeire.

Talán az eredményeink legnagyobb jelentősége éppen az, hogy egy olyan új és egyszerű módszert kínálnak, amelyben R_0 és f_0 együttes mérésén keresztül a membrán két legfontosabb rugalmas paramétere, a σ felületi feszültség és a κ hajlítási merevség, azonnal meghatározható. Korábbi módszerekkel csak külön-külön, és a rendszer komoly megzavarásával lehetett ezeket megmérni. Az új módszerünk lehetőséget teremt arra is, hogy biológiai folyamatokban ezen mennyiségek változását folyamatosan nyomon kövessük.

Összefoglalás

A fejezetben ismertetett eredmények a következőképpen foglalhatók össze:

- Megmutattuk, hogy a membrán nanocsövek kialakulása egy nemtriviális folyamat: kezdetben az erő lineárisan nő a kihúzási távolsággal, később azonban nem-monoton módon, egy maximumon való áthaladás után oszcillálva konvergál az f_0 értékhez.

- Megmutattuk továbbá, hogy ha nem egy pontban, hanem egy nagyobb felületen húzzuk a membránt, akkor a cső egy elsőrendű alakváltozással jön létre. A húzóerő az alakváltozás előtt nem sokkal éri el maximális értékét, amely arányos a húzott felület sugarával. Ezek az eredmények magyarázatot adnak M. Dogterom csoportjának kísérleti megfigyeléseire.
- Kvantitatív leírását adtuk egy membrán vezikulumból kihúzott két nanocső összeolvadásának, amely nagyon pontos egyezést mutat P. Nassoy csoportjának kísérleteivel. Az eredmények egy új mérési módszert kínálnak a biológiai membránok rugalmas paramétereinek meghatározására.

Köszönetnyilvánítás

Mindenekelőtt szeretném kifejezni őszinte hálámat Vicsek Tamásnak, aki annak idején, PhD témavezetőmként, elindított a biológiai nanorendszerek kutatásának irányába, és a későbbiekben is folyamatosan figyelemmel kísérte, és tanácsaival segítette pályám alakulását. Tőle tanultam meg, mit jelent kutatónak lenni, hogyan kell a tudományos problémákat felismerni és megoldani, az eredményeket pedig közzétenni. Különösen hálás vagyok azért, hogy külföldön töltött posztdoktori éveim után egyetemi adjunktusként helyet tudott számomra biztosítani az ELTE Biológiai Fizika Tanszékén, ahol kiváló kollégák társaságában, inspiráló környezetben dolgozhatok saját kutatási témáimon, építhetek ki egy kutatócsoportot magam körül, és vehetek részt a már folyó kutatásokban.

Köszönettel tartozom R. Dean Astumiannak és Jacques Prostnak, akiknél két-két évet tölthettem posztdoktori kutatóként a University of Chicago-n, ill. az Institut Curie-ben. Sokat tanulhattam tőlük, a biológiai fizika újabb ágaival és módszereivel ismertettek meg, és nagy hatással voltak pályám alakulására.

Köszönettel tartozom az összes társ szerzőmnek (a neveiket hosszú lenne itt felsorolni), akikkel minden esetben nagyon élveztem az együttműködést. Külön kiemelném közülük Armand Ajdarit és Barabási Lászlót, akikkel időről időre több különböző projekten is együtt dolgozhattam.

És végezetül, hadd fejezzem ki hálámat feleségemnek, aki mindvégig kitartóan mellettem állt, és biztosította a nyugodt családi hátteret, valamint szüleimnek, akik gondoskodásukkal lehetővé tették, hogy idáig eljussak.

A tézispontokhoz kapcsolódó saját publikációk

- [T1] R. D. Astumian and I. Derényi: Fluctuation driven transport and models of molecular motors and pumps. *Eur. Biophys. J.* **27**, 474–489 (1998).
- [T2] R. D. Astumian and I. Derényi: A chemically reversible Brownian motor: application to kinesin and Ncd. *Biophys. J.* **77**, 993–1002 (1999).
- [T3] I. Derényi and R. D. Astumian: Intrawell relaxation time: the limit of the adiabatic approximation. *Phys. Rev. Lett.* **82**, 2623–2627 (1999).
- [T4] M. Bier, I. Derényi, M. Kostur, and R. D. Astumian: Intrawell relaxation of overdamped Brownian particles. *Phys. Rev. E* **59**, 6422–6432 (1999).
- [T5] I. Derényi and R. D. Astumian: Efficiency of Brownian heat engines. *Phys. Rev. E* **59**, R6219–R6222 (1999).
- [T6] I. Derényi, M. Bier, and R. D. Astumian: Generalized efficiency and its application to microscopic engines. *Phys. Rev. Lett.* **83**, 903–906 (1999).
- [T7] I. Derényi and R. D. Astumian: ac separation of particles by biased Brownian motion in a two-dimensional sieve. *Phys. Rev. E* **58**, 7781–7784 (1998).
- [T8] M. Bier, M. Kostur, I. Derényi, and R. D. Astumian: Nonlinearly coupled flows. *Phys. Rev. E* **61**, 7184–7187 (2000).
- [T9] C.-S. Lee, B. Jankó, I. Derényi, and A.-L. Barabási: Reducing vortex density in superconductors using the ‘ratchet effect’. *Nature* **400**, 337–340 (1999).
- [T10] A.-L. Barabási, B. Jankó, C. Lee, I. Derényi: Reducing vortex densities and transporting vortices in superconductors. *U.S. Patent* No. 6,469,880 (October 22, 2002). Részarány: 25%.
- [T11] I. Derényi: Application of the ratchet effect to improving material quality (reducing vortex density in superconductors and smoothing surfaces). *Appl. Phys. A* **75**, 217–222 (2002).
- [T12] R. D. Astumian and I. Derényi: Towards a chemically driven molecular electron pump. *Phys. Rev. Lett.* **86**, 3859–3862 (2001).

- [T13] I. Derényi, D. Bartolo, and A. Ajdari: Effects of intermediate bound states in dynamic force spectroscopy. *Biophys. J.* **86**, 1263–1269 (2004).
- [T14] D. Bartolo, I. Derényi, and A. Ajdari: Dynamic response of adhesion complexes: Beyond the single-path picture. *Phys. Rev. E* **65**, 051910 (2002).
- [T15] I. Derényi, F. Jülicher, and J. Prost: Formation and interaction of membrane tubes. *Phys. Rev. Lett.* **88**, 238101 (2002).
- [T16] O. Rossier, D. Cuvelier, N. Borghi, P. H. Puech, I. Derényi, A. Buguin, P. Nassoy, and F. Brochard-Wyart: Giant Vesicles under Flows: Extrusion and Retraction of Tubes. *Langmuir* **19**, 575–584 (2003).
- [T17] G. Koster, A. Cacciuto, I. Derényi, D. Frenkel, and M. Dogterom: Force barriers for membrane tube formation. *Phys. Rev. Lett.* **94**, 068101 (2005).
- [T18] D. Cuvelier, I. Derényi, P. Bassereau, and P. Nassoy: Coalescence of membrane tethers: Experiments, theory, and applications. *Biophys. J.* **88**, 2714–2726 (2005).

Irodalomjegyzék

- [1] *Frontiers in Chemistry: Single Molecules* (special issue). *Science* **283**, 1593–1804 (1999).
- [2] B. Alberts, A. Johnson, J. Lewis, M. Raff, K. Roberts, and P. Walter: *Molecular Biology of the Cell*, 4th edn (Garland Science, New York 2002).
- [3] R. D. Vale and R. A. Milligan: The way things move: looking under the hood of molecular motor proteins. *Science* **288**, 88–95 (2000).
- [4] J. Howard: *Mechanics of motor proteins and the cytoskeleton*, (Sinauer Associates, Sunderland 2001).
- [5] R. D. Vale: The molecular motor toolbox for intracellular transport. *Cell* **112**, 467–480 (2003).
- [6] M. Schliwa: *Molecular Motors* (VCH-Wiley, Weinheim, 2003).
- [7] W. Junge, H. Lill, and S. Engelbrecht: ATP synthase: An electrochemical transducer with rotatory mechanics. *Trends Biochem. Sci.* **22**, 420–423 (1997).
- [8] T. Elston, H. Wang, and G. Oster: Energy transduction in ATP synthase. *Nature* **391**, 510–513 (1998).
- [9] P. D. Boyer: The binding change mechanism for ATP synthase – some probabilities and possibilities. *Biochim. Biophys. Acta* **1140**, 215–250 (1993).
- [10] H. Noji, R. Yasuda, M. Yoshida, and K. Kinosita: Direct observation of the rotation of F₁-ATPase. *Nature* **386**, 299–302 (1997).
- [11] H. Wang and G. Oster: Energy transduction in the F₁ motor of ATP synthase. *Nature* **396**, 279–282 (1998).
- [12] A. Ajdari and J. Prost: Drift induced by a spatially periodic potential of low symmetry - pulsed dielectrophoresis. *C. R. Acad. Sci. Paris* **315**, 1635–1639 (1992).
- [13] M. O. Magnasco: Forced thermal ratchets. *Phys. Rev. Lett.* **71**, 1477–1481 (1993).

- [14] R. D. Astumian and M. Bier, Fluctuation driven ratchets - molecular motors. *Phys. Rev. Lett.* **72**, 1766–1769 (1994).
- [15] P. Hänggi and R. Bartussek: In *Lecture Notes in Physics*, edited by J. Parisi *et al.* (Springer, Berlin, 1996) Vol. **476**, pp. 294–308.
- [16] R. D. Astumian: Thermodynamics and kinetics of a Brownian motor. *Science* **276**, 917–922 (1997).
- [17] F. Jülicher, A. Ajdari, and J. Prost: Modeling molecular motors. *Rev. Mod. Phys.* **69**, 1269–1281 (1997).
- [18] P. Reimann: Brownian motors: noisy transport far from equilibrium. *Phys. Rep.* **361**, 57–265 (2002).
- [19] C. S. Peskin and G. Oster: Coordinated hydrolysis explains the mechanical behavior of kinesin. *Biophys. J.* **68**, 202s–211s (1995).
- [20] I. Derényi and T. Vicsek: The kinesin walk: a dynamic model with elastically coupled heads. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **93**, 6775–6779 (1996).
- [21] K. Svoboda, C. F. Schmidt, B. J. Schnapp, and S. M. Block: Direct observation of kinesin stepping by optical trapping interferometry. *Nature* **365**, 721–727 (1993).
- [22] K. Visscher, M. J. Schnitzer, and S. M. Block: Single kinesin molecules studied with a molecular force clamp. *Nature* **400**, 184–189 (1999).
- [23] H. B. McDonald and L. S. B. Goldstein: Identification and characterization of a gene encoding a kinesin-like protein in *Drosophila*. *Cell* **61**, 991–1000 (1990).
- [24] E. P. Sablin, J. F. Kull, R. Cooke, R. D. Vale, and R. J. Fletterick: Crystal structure of the motor domain of the kinesin-related motor ncd. *Nature* **380**, 555–559 (1996).
- [25] K. Hirose, A. Lockhart, R. A. Cross, and L. A. Amos: Three dimensional cryo-electron microscopy of dimeric kinesin and ncd motor domains on microtubules. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **93**, 9539–9544 (1996).
- [26] U. Henningsen and M. Schliwa: Reversal in the direction of movement of a molecular motor. *Nature* **389** 93–95 (1997).
- [27] R. B. Case, D. W. Pierce, N. Horn-Booher, C. L. Hart, and R. D. Vale: The directional preference of kinesin motors is specified by an element outside of the motor catalytic domain. *Cell* **90** 959–966 (1997).
- [28] H. Risken: *The Fokker-Planck Equation*, 2nd ed. (Springer, Berlin, 1989).
- [29] W. T. Coffey: Finite integral representation of characteristic times of orientational relaxation processes: Application to the uniform bias force effect in relaxation in bistable potentials. *Adv. Chem. Phys.* **103**, 259–333 (1998).

- [30] C. W. Gardiner: *Handbook of Stochastic Methods*, 2nd ed. (Springer, Berlin, 1985).
- [31] R. P. Feynman, R. B. Leighton, and M. Sands: *The Feynman Lectures on Physics* (Addison-Wesley, Reading, MA, 1966).
- [32] J. M. R. Parrondo and P. Español: Criticism of Feynman's analysis of the ratchet as an engine. *Am. J. Phys.* **64**, 1125–1130 (1996).
- [33] K. Sekimoto: Kinetic characterization of heat bath and the energetics of thermal ratchet models. *J. Phys. Soc. Jpn.* **66**, 1234–1237 (1997).
- [34] I. M. Sokolov and A. Blumen: Non-equilibrium directed diffusion and inherently irreversible heat engines. *J. Phys. A* **30**, 3021–3027 (1997).
- [35] M. Büttiker: Transport as a consequence of state-dependent diffusion. *Z. Phys. B* **68**, 161–167 (1987).
- [36] R. Landauer: Motion out of noisy states. *J. Stat. Phys.* **53**, 233–248 (1988).
- [37] M. Bier and R. D. Astumian: Biased Brownian motion as the operating principle for microscopic engines. *Bioelectrochem. Bioenerg.* **39**, 67–75 (1996).
- [38] J. Rousselet, L. Salome, A. Ajdari, and J. Prost: Directional motion of brownian particles induced by a periodic asymmetric potential. *Nature* **370**, 446–448 (1994).
- [39] T. A. J. Duke and R. H. Austin: Microfabricated sieve for the continuous sorting of macromolecules. *Phys. Rev. Lett.* **80**, 1552–1555 (1998).
- [40] D. Ertas: Lateral separation of macromolecules and polyelectrolytes in microlithographic arrays. *Phys. Rev. Lett.* **80**, 1548–1551 (1998).
- [41] C.-F. Chou, O. Bakajin, S. W. P. Turner, T. A. J. Duke, S. S. Chan, E. C. Cox, H. G. Craighead, and R. H. Austin: Sorting by diffusion: An asymmetric obstacle course for continuous molecular separation. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **96**, 13762–13765 (1999).
- [42] L. R. Huang, P. Silberzan, J. O. Tegenfeldt, E. C. Cox, J. C. Sturm, R. H. Austin, and H. Craighead: Role of Molecular Size in Ratchet Fractionation. *Phys. Rev. Lett.* **89**, 178301 (2002).
- [43] R. H. Austin, N. Darnton, R. Huang, J. Sturm, O. Bakajin, and T. Duke: Ratchets: the problems with boundary conditions in insulating fluids. *Appl. Phys. A* **75**, 279–284 (2002).
- [44] I. Derényi, C. Lee, and A.-L. Barabási: Ratchet effect in surface electromigration: smoothing surfaces by an ac field. *Phys. Rev. Lett.* **80**, 1473–1476 (1998).

- [45] P. J. Pablo, J. Colchero, J. Gómez-Herrero, A. Asenjo, M. Luna, P. A. Serena, and A. M. Baró: Ratchet effect in surface electromigration detected with scanning force microscopy in gold micro-strips. *Surf. Sci.* **464**, 123–130 (2000).
- [46] P. J. Pablo, A. Asenjo, J. Colchero, P. A. Serena, J. Gómez-Herrero, and A. M. Baró: In situ observation of electromigration in micrometre-sized gold stripes by scanning force microscopy. *Surf. Interface Anal.* **30**, 278–282 (2000).
- [47] J. E. Villegas, S. Savel'ev, F. Nori, E. M. Gonzalez, J. V. Anguita, R. Garcia, and J. L. Vicent: A superconducting reversible rectifier that controls the motion of magnetic flux quanta. *Science* **302**, 1188–1191 (2003).
- [48] J. E. Villegas, E. M. Gonzalez, M. P. Gonzalez, J. V. Anguita, and J. L. Vicent: Experimental ratchet effect in superconducting films with periodic arrays of asymmetric potentials. *Phys. Rev. B* **71**, 024519 (2005).
- [49] J. Van de Vondel, C. C. D. Silva, B. Y. Zhu, M. Morelle, and V. V. Moshchalkov: Vortex-rectification effects in films with periodic asymmetric pinning. *Phys. Rev. Lett.* **94**, 057003 (2005).
- [50] Y. Togawa, K. Harada, T. Akashi, H. Kasai, T. Matsuda, F. Nori, A. Maeda, and A. Tonomura: Direct observation of rectified motion of vortices in a niobium superconductor. *Phys. Rev. Lett.* **95**, 087002 (2005).
- [51] M. Tinkham: *Introduction to Superconductivity* (McGraw-Hill, New York, 1996).
- [52] G. B. Donaldson, C. M. Pegrum, and R. J. P. Bain: Integrated thin film SQUID instruments. In *SQUID '85: Proc. 3rd Int. Conf. on Superconducting Quantum Devices*, edited by H. D. Hahlbohm and H. Lübbig (Walter Gruyter, Berlin, 1985) pp. 749–753.
- [53] J. Clarke: In *SQUID Sensors: Fundamentals, Fabrication and Application*, edited by H. Weinstock, (Kluwer Acad. Publ., 1996) pp. 1–62.
- [54] D. Koelle, R. Kleiner, F. Ludwig, E. Dantsker, and John Clarke: High-transition-temperature superconducting quantum interference devices. *Rev. Mod. Phys.* **71**, 631–686 (1999).
- [55] E. Zeldov, A. I. Larkin, V. B. Geshkenbein, M. Konczykowski, D. Majer, B. Khaykovich, V. M. Vinokur, and H. Shtrikman: Geometrical barriers in high-temperature superconductors. *Phys. Rev. Lett.* **73**, 1428–1431 (1994).
- [56] L. P. Kouwenhoven, A. T. Johnson, N. C. van der Vaart, C. J. P. M. Harmans, and C. T. Foxon: Quantized current in a quantum-dot turnstile using oscillating tunnel barriers. *Phys. Rev. Lett.* **67**, 1626–1629 (1991).
- [57] H. Pothier, P. Lafarge, C. Urbina, D. Esteve, and M. H. Devoret: Single-electron pump based on charging effects. *Euro. Phys. Lett.* **17**, 249–254 (1992).

- [58] M. Switkes, C. M. Marcus, K. Campman, and A. C. Gossard: An adiabatic quantum electron pump. *Science*, **283**, 1905–1908 (1999).
- [59] D. J. Thouless: Quantization of particle transport. *Phys. Rev. B* **27**, 6083–6087 (1983).
- [60] M. A. Reed: Molecular scale electronics. *Proc. IEEE* **87**, 652–658 (1999).
- [61] D. Goldhaber-Gordon, M. S. Montmerlo, J. C. Love, G. J. Opiteck, and J. C. Ellenbogen: Overview of nanoelectronic devices. *Proc. IEEE* **85**, 521–540 (1997).
- [62] D. L. Pearson and J. M. Tour: Rapid synthesis of Oligo(2,5-thiophene ethynylene)s with thioester termini: Potential molecular scale wires with alligator clips. *J. Org. Chem.* **62**, 1376–1387 (1997).
- [63] A. Aviram and M. A. Ratner: Molecular rectifiers. *Chem. Phys. Lett.* **29**, 277–283 (1974).
- [64] B. L. Altshuler and L. I. Glazman: Pumping electrons. *Science*, **283**, 1864–1865 (1999).
- [65] R. D. Astumian, B. Robertson, R. S. Li, and J. Ross: Quadratic response of a chemical reaction to external oscillations. *J. Chem. Phys.* **96**, 6536–6542 (1992).
- [66] E. Evans: Energy landscapes of biomolecular adhesion and receptor anchoring at interfaces explored with dynamic force spectroscopy. *Faraday Discuss.* **111**, 1–16 (1998).
- [67] E. Evans: Probing the relation between force lifetime and chemistry in single molecular bonds. *Annu. Rev. Biophys. Biomol. Struct.* **30**, 105–128 (2001).
- [68] E. Evans and P. Williams: Dynamic force spectroscopy. In *Physics of biomolecules and cells*, edited by H. Flyvbjerg *et al.* (Springer, Berlin, 2002). pp. 145–204.
- [69] A. Pierres, A. M. Benoliel, P. Bongrand, and P. A. van der Merwe: Determination of the lifetime and force dependence of interactions of single bonds between surface-attached CD2 and CD48 adhesion molecules. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **93** 15114–15118 (1996).
- [70] D. A. Simson, M. Strigl, M. Hohenadl, and R. Merkel: Statistical breakage of single protein A-IgG bonds reveals crossover from spontaneous to force-induced bond dissociation. *Phys. Rev. Lett.* **83** 652–655 (1999).
- [71] T. Nishizaka, R. Seo, H. Tadakuma, K. Kinoshita, and S. Ishiwata: Characterization of single actomyosin rigor bonds: Load dependence of lifetime and mechanical properties. *Biophys. J.* **79** 962–974 (2000).
- [72] M. G. Poirier, A. Nemani, P. Gupta, S. Eroglu, and J. F. Marko: *Phys. Rev. Lett.* **86** 360–363 (2001).

- [73] T. R. Strick, M.-N. Dessinges, G. Charvin, N. H. Dekker, J.-F. Allemand, D. Bensimon, and V. Croquette: Stretching of macromolecules and proteins. *Rep. Prog. Phys.* **66** 1–45 (2003).
- [74] J. W. Weisel, H. Shuman, and R. Litvinov: Protein-protein unbinding induced by force: single-molecule studies. *Curr. Opin. Struct. Biol.* **13** 227–235 (2003).
- [75] R. Nevo, C. Stroh, F. Kienberger, D. Kaftan, V. Brumfeld, M. Elbaum, and Z. Reich: A molecular switch between alternative conformational states in the complex of Ran and importin beta1. *Nat. Struct. Biol.* **10**, 553–557 (2003).
- [76] M. S. Kellermayer, S. B. Smith, H. L. Granzier, and C. Bustamante: Folding-unfolding transitions in single titin molecules. *Science* **276** 1112–1116 (1997).
- [77] M. Rief, M. Gautel, F. Oesterhelt, J. M. Fernandez, and H. E. Gaub: Reversible unfolding of individual titin immunoglobulin domains by AFM. *Science* **276** 1109–1112 (1997).
- [78] U. Seifert: Dynamic strength of adhesion molecules: Role of rebinding and self-consistent rates. *Europhys. Lett.* **58** 792–798 (2002).
- [79] G. Hummer and A. Szabo: Kinetics from nonequilibrium single-molecule pulling experiments. *Biophys. J.* **85** 5–15 (2003).
- [80] M. Dembo, D. C. Torney, K. Saxman, and D. Hammer: The reaction-limited kinetics of membrane-to-surface adhesion and detachment. *Proc. R. Soc. Lond. B* **234**, 55–83 (1988).
- [81] J. Lane and V. Allan: Microtubule-based endoplasmic reticulum motility in *Xenopus laevis*: activation of membrane-associated kinesin during development. *Mol. Biol. Cell* **10**, 1909–1922 (1999).
- [82] M. Terasaki, L. B. Chen, and K. Fujiwara: Microtubules and the endoplasmic reticulum are highly interdependent structures. *J. Cell Biol.* **103**, 1557–1568 (1986).
- [83] C. Lee and L. B. Chen: Dynamic behavior of endoplasmic reticulum in living cells. *Cell* **54**, 37–46 (1988).
- [84] C. M. Waterman-Storer and E. D. Salmon: Endoplasmic reticulum membrane tubules are distributed by microtubules in living cells using three distinct mechanisms. *Curr. Biol.* **8**, 798–806 (1998).
- [85] F. Feiguin, A. Ferreira, K. S. Kosik, and A. Caceres: Kinesin-mediated organelle translocation revealed by specific cellular manipulations. *J. Cell Biol.* **127**, 1021–1039 (1994).
- [86] C. H. Lee, M. Ferguson, and L. B. Chen: Construction of the endoplasmic reticulum. *J. Cell Biol.* **109**, 2045–2055 (1989).

- [87] S. L. Dabora and M. P. Sheetz: The microtubule-dependent formation of a tubulovesicular network with characteristics of the ER from cultured cell extracts. *Cell* **54**, 27–35 (1988).
- [88] R. D. Vale and H. Hotani: Formation of membrane networks in vitro by kinesin-driven microtubule movement. *J. Cell. Biol.* **107**, 2233–2241 (1988).
- [89] V. Allan and R. D. Vale: Movement of membrane tubules along microtubules in vitro: evidence for specialised sites of motor attachment. *J. Cell Sci.* **107**, 1885–1897 (1994).
- [90] H. H. Mollenhauer and D. J. Morré: The tubular network of the Golgi apparatus. *Histochem. Cell Biol.* **109**, 533–543 (1998).
- [91] N. Sciaky, J. Presley, C. Smith, K. J. M. Zaal, N. Cole, J. E. Moreira, M. Terasaki, E. Siggia, and J. Lippincott-Schwartz: Golgi tubule traffic and the effects of brefeldin A visualized in living cells. *J. Cell Biol.* **139**, 1137–1155 (1997).
- [92] E. V. Polishchuk, A. Di Pentima, A. Luini, and R. S. Polischuk: Mechanism of constitutive export from the Golgi: bulk flow via the formation, protrusion, and en bloc cleavage of large trans-Golgi network tubular domains. *Mol. Biol. Cell* **14**, 4470–4485 (2003).
- [93] T. Kirchhausen: Three ways to make a vesicle. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* **1**, 187–198 (2000).
- [94] J. S. Bonifacino and B. S. Glick: The mechanisms of vesicle budding and fusion. *Cell* **116**, 153–166 (2004).
- [95] M. Dogterom, J. W. J. Kerssemakers, G. Romet-Lemonne, and M. E. Janson: Force generation by dynamic microtubules. *Curr. Opin. Cell Biol.* **17**, 67–74 (2005).
- [96] H. Delanoë-Ayari, P. Lenz, J. Brevier, M. Weidenhaupt, M. Vallade, D. Gulino, J. F. Joanny, and D. Riveline: Periodic adhesive fingers between contacting cells. *Phys. Rev. Lett.* **93**, 108102 (2004).
- [97] A. Rustom, R. Saffrich, I. Markovic, P. Walther, and H.-H. Gerdes: Nanotubular highways for intercellular organelle transport. *Science* **303**, 1007–1010 (2004).
- [98] R. M. Hochmuth, N. Mohandas, and P. L. Blackshear: Measurement of the elastic modulus for red cell membrane using a fluid mechanical technique. *Biophys. J.* **13**, 747–762 (1973).
- [99] R. E. Waugh: Surface viscosity measurements from large bilayer vesicle tether formation. II. Experiments. *Biophys. J.* **38**, 29–37 (1982).
- [100] R. M. Hochmuth, H. C. Wiles, E. A. Evans, and J. T. McCown: Extensional flow of erythrocyte membrane from cell body to elastic tether, II. *Biophys. J.* **39**, 83–89 (1982).

- [101] R. E. Waugh, J. Song, S. Svetina, and B. Zeks: Local and nonlocal curvature elasticity in bilayer membranes by tether formation from lecithin vesicles. *Biophys J.* **61**, 974–982 (1992).
- [102] E. Evans and A. Yeung: Hidden dynamics in rapid changes of bilayer shape. *Chem. Phys. Lipids* **73**, 39–56 (1994).
- [103] A. Upadhyaya and M. P. Sheetz: Tension in tubulovesicular networks of Golgi and endoplasmic reticulum membranes. *Biophys. J.* **86**, 2923–2928 (2004).
- [104] Z. Li, B. Anvari, M. Takashima, P. Brecht, J. H. Torres, and W. E. Brownell : Membrane tether formation from outer hair cells with optical tweezers. *Biophys. J.* **82**, 1386–1395 (2002).
- [105] T. Roopa and G. V. Shivashankar: Nanomechanics of membrane tubulation and DNA assembly. *Appl. Phys. Lett.* **82**, 1631–1633 (2003).
- [106] D. Raucher and M. P. Sheetz: Characteristics of a membrane reservoir buffering membrane tension. *Biophys. J.* **77**, 1992–2002 (1999).
- [107] V. Heinrich and R. E. Waugh: A piconewton force transducer and its application to measurement of the bending stiffness of phospholipid membranes. *Ann. Biomed. Eng.* **24**, 595–605 (1996).
- [108] H. Hotani, T. Inaba, F. Nomura, S. Takeda, K. Takiguchi, T. J. Itoh, T. Umeda, and A. Ishijima: Mechanical analyses of morphological and topological transformation of liposomes. *Biosystems* **71**, 93–100 (2003).
- [109] D. K. Fygenson, J. F. Marko, and A. Libchaber: Mechanics of microtubule-based membrane extension. *Phys. Rev. Lett.* **79**, 4497–4500 (1997).
- [110] A. Roux, G. Cappello, J. Cartaud, J. Prost, B. Goud, and P. Bassereau: A minimal system allowing tubulation with molecular motors pulling on giant liposomes. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **99**, 5394–5399 (2002).
- [111] C. Leduc, O. Campàs, K. B. Zeldovich, A. Roux, P. Jolimaitre, L. Bourel-Bonnet, B. Goud, J.-F. Joanny, P. Bassereau, and J. Prost: Cooperative extraction of membrane nanotubes by molecular motors. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **101**, 17096–17101 (2004).
- [112] G. Koster, M. VanDuijn, B. Hofs, and M. Dogterom: Membrane tube formation from giant vesicles by dynamic association of motor proteins. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **100**, 15583–15588 (2003).
- [113] J. Dai and M. P. Sheetz: Mechanical properties of neuronal growth cone membranes studied by tether formation with laser optical tweezers. *Biophys. J.* **68**, 988–996 (1995).
- [114] J. Dai and M. P. Sheetz: Membrane tether formation from blebbing cells. *Biophys. J.* **77**, 3363–3370 (1999).

- [115] R. M. Hochmuth, J. Y. Shao, J. Dai, and M. P. Sheetz: Deformation and flow of membrane into tethers extracted from neuronal growth cones. *Biophys. J.* **70**, 358–369 (1996).
- [116] E. Evans, H. Bowman, A. Leung, D. Needham, and D. Tirrell: Biomembrane templates for nanoscale conduits and networks. *Science* **273**, 933–935 (1996).
- [117] A. Karlsson, R. Karlsson, M. Karlsson, A.-S. Cans, A. Strömberg, F. Ryttsén, and O. Orwar: Networks of nanotubes and containers. *Nature* **409**, 150–152 (2001).
- [118] M. Karlsson, K. Sott, M. Davidson, A.-S. Cans, P. Linderholm, D. Chiu, and O. Orwar: Formation of geometrically complex lipid nanotube-vesicle networks of higher-order topologies. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **99**, 11573–11578 (2002).
- [119] M. Karlsson, M. Davidson, R. Karlsson, A. Karlsson, J. Bergenholtz, Z. Konkoli, A. Jesorka, T. Lobovkina, J. Hurtig, M. Voinova, and O. Orwar: Biomimetic nanoscale reactors and networks. *Ann. Rev. Phys. Chem.* **55**, 613–649 (2004).
- [120] T. Lobovkina, P. Dommersnes, J.-F. Joanny, P. Bassereau, M. Karlsson, and O. Orwar: Mechanical tweezer action by self-tightening knots in surfactant nanotubes. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **101**, 7949–7953 (2004).
- [121] U. Seifert and R. Lipowsky: Morphology of Vesicles. In *Structure and Dynamics of Membranes*, edited by R. Lipowsky and E. Sackmann (Elsevier Science, Amsterdam, 1995) vol 1A, pp. 403–462
- [122] U. Seifert: Configurations of fluid membranes and vesicles. *Adv. Phys.* **46**, 13–137 (1997).
- [123] W. Helfrich: Elastic properties of lipid bilayers: theory and possible experiments. *Z. Naturforsch. C* **28**, 693–703 (1973).
- [124] P. B. Canham: The minimum energy of bending as a possible explanation of the biconcave shape of the human red blood cell. *J. Theor. Biol.* **26**, 61–81 (1970).
- [125] L. Miao, U. Seifert, M. Wortis, and H. G. Dobereiner: Budding transition of fluid-bilayer vesicles: the effect of area-difference elasticity. *Phys. Rev. E* **49**, 5389–5407 (1994).
- [126] V. Heinrich, B. Bozic, S. Svetina, and B. Zeks: Vesicle deformation by an axial load: From elongated shapes to tethered vesicles. *Biophys. J.* **76**, 2056–2071 (1999).
- [127] H. G. Döbereiner, E. Evans, M. Kraus, U. Seifert, and M. Wortis: Mapping vesicle shapes into the phase diagram: a comparison of experiment and theory. *Phys. Rev. E* **55**, 4458–4474 (1997).
- [128] D. J. Bukman, J. H. Yao, and M. Wortis: Stability of cylindrical vesicles under axial tension. *Phys. Rev. E* **54**, 5463–5468 (1996).

- [129] T. R. Powers, G. Huber, and R. E. Goldstein: Fluid-membrane tethers: Minimal surfaces and elastic boundary layers. *Phys. Rev. E* **65**, 041901 (2002).
- [130] R. E. Waugh and R. M. Hochmuth: Mechanical equilibrium of thick, hollow, liquid membrane cylinders. *Biophys. J.* **52**, 391–400 (1987).
- [131] L. Bo and R. E. Waugh: Determination of bilayer membrane bending stiffness by tether formation from giant, thin-walled vesicles. *Biophys. J.* **55**, 509–517 (1989).
- [132] F. Jülicher and U. Seifert: Shape equation for axisymmetric vesicles: A clarification. *Phys. Rev. E* **49**, 4728–4731 (1994).
- [133] H. Jian-Guo and O.-Y. Zhong-Can: Shape equations of the axisymmetric vesicles. *Phys. Rev. E* **47**, 461–467 (1993).
- [134] W.-M. Zheng and J. Liu: Helfrich shape equation for axisymmetric vesicles as a first integral. *Phys. Rev. E* **48**, 2856–2860 (1993).
- [135] B. Bozic, S. Svetina, and B. Zeks: Theoretical analysis of the formation of membrane microtubes on axially strained vesicles. *Phys. Rev. E* **55**, 5834–5842 (1997).
- [136] B. Bozic, V. Heinrich, S. Svetina, and B. Zeks: Shapes of nearly cylindrical, axisymmetric bilayer membranes. *Eur. Phys. J. E* **6**, 91–98 (2001).
- [137] T. Inaba, A. Ishijima, M. Honda, F. Nomura, K. Takiguchi, and H. Hotani: Formation and maintenance of tubular membrane projections require mechanical force, but their elongation and shortening do not require additional force. *J. Mol. Biol.* **348**, 325–333 (2005).
- [138] K. Brakke: The surface evolver. *Exper. Math.* **1**, 141–165 (1992).